

# 肾小管间质纤维化进程中肌成纤维细胞的来源

张鹏程 黄荣桂

肾小管间质纤维化 (renal tubulointerstitial fibrosis, RIF) 是各种原因所致的肾小管间质病变的最终结果,也是多种慢性肾脏病发展到终末期肾衰竭的最后共同通路<sup>[1]</sup>。RIF 以肾小管萎缩或扩张,肾间质白细胞浸润,肌成纤维细胞积聚以及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 在肾间质过度沉积为特征<sup>[2]</sup>。而以  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA) 为主要形态学特征的肌成纤维细胞 (myofibroblast) 在肾小管间质纤维化的发生和发展起着至关重要的作用,它是肾间质中过度积聚的 ECM 的主要来源,但其来源却是一个有争议的问题<sup>[3-6]</sup>。本文将对肌成纤维细胞在肾小管间质纤维化中的来源、产生机制、及病理学意义相关方面的研究做一综述。

## 一、肾小管间质纤维化发生的病理生理机制

过去有一个普遍的认识,在多数肾脏疾病情况下,促进肾脏疾病进一步恶化和决定肾脏预后的主要因素是肾小球的病损程度。但近年来的研究发现,导致进展性终末期肾衰竭的最重要因素是肾小管间质的病损程度以及肾小管间质纤维化的形成速度。尽管在疾病的初期主要表现为肾小球所致的蛋白尿,但其远期预后主要取决于肾小管间质的病变程度<sup>[7]</sup>。间质纤维化与疾病进展联系紧密且是判断临床疗效有力的形态学预测指标。因此,了解间质纤维化的病理生理过程对发展新的治疗方法减缓疾病进展至关重要。

肾小管间质纤维化的病理生理过程可以被分为 4 个阶段。第 1 细胞活化及损伤的阶段。肾小管受到刺激,管周毛细血管内皮细胞协助单核细胞迁移到肾间质,并在其中发育成熟为巨噬细胞;而肌成纤维细胞或活化的成纤维细胞则开始在肾间质积聚。这些细胞释放的可溶性产物加剧了炎症反应,而炎症是慢性肾脏疾病的基本病理改变,也是肾纤维化的启动因素。在持续的损伤和炎症下,肌成纤维细胞的数量

进一步增加并分泌过量的细胞外基质最终导致肾纤维化。第 2 纤维化信号阶段,其特点是毛细血管内皮细胞、单核细胞、巨噬细胞和肌成纤维细胞等释放的可溶性产物有促纤维化效应。多种生长因子和细胞因子相互都有关联,这其中转化生长因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1),结缔组织生长因子 (CTGF),血管紧张素 II (Ang II) 和内皮素-1 (ET-1) 起主要作用。除了这些促纤维化因子之外,其他一些因子包括血小板源性生长因子 (PDGF),碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF),肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-1 (IL-1) 也可能参与其中;而干扰素- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) 和肝细胞生长因子 (HGF) 则可能引发抗纤维化效应。第 3 纤维化阶段,这一阶段基质蛋白开始可能正常也可能异常地在肾间质积聚。在此期间,基质蛋白的合成增加和损伤的基质更新是明显的。后者是由于肾脏产生的蛋白酶抑制因子,如基质金属蛋白酶组织抑制因子 (TIMP) 和纤溶酶原激活物抑制因子 (PAI) 表达上调,抑制正常调节基质更新的肾脏蛋白酶 (如金属蛋白酶) 所致。ECM 这种动态平衡失调,致使 ECM 在肾间质过度沉积引起 RIF。第 4 肾功能损伤阶段,最终的结果就是基质积聚过多。这一过程中肾小管和管周毛细血管被堵塞,完整的肾单位数量逐渐减少导致肾小球滤过持续下降,直至发生肾衰竭<sup>[8]</sup>。

## 二、RIF 中肌成纤维细胞的来源

肾间质中细胞外基质的沉积是多种形式肾脏病的最终共同通路,这些 ECM 多由间质肌成纤维细胞合成。因此,了解肌成纤维母细胞的起源和分化途径是确定纤维化病新治疗策略的关键。近年来对肌成纤维细胞的起源也给予了相当程度的关注,已经提出间质肌成纤维细胞可能多种来源,这其中主要有固有成纤维细胞,外膜成纤维细胞,骨髓源性肌成纤维细胞,肾小管上皮细胞-间充质细胞转型 (tubular epithelial-mesenchymal transition, EMT) 或内皮细胞-间充质细胞转型 (endothelial-mesenchymal transition, EndMT) 等<sup>[6]</sup>。

作者单位:362000 泉州,福建医科大学第二临床医学院肾内科

通讯作者:黄荣桂,教授,硕士生导师,电子信箱:minnanshenyou@

126.com

### 三、RIF 中肌成纤维细胞的病理学意义

肾间质纤维化的实验模型已基本明确了纤维化机制和纤维化进展的一系列事件,这其中肾间质  $\alpha$ -SMA 阳性的肌成纤维细胞的集聚和肾小管间质纤维化程度之间存在显著相关性<sup>[1]</sup>。间质肌成纤维细胞是一种独特的细胞群,其结构和生物学特性介于成纤维细胞和平滑肌细胞之间。由于正常的肾脏中几乎不存在间质肌成纤维细胞,因此,它们的活化可能是肾纤维化进展发病机制中的决定性事件之一<sup>[9]</sup>。在这方面,肌成纤维细胞的活化通常被认为是各种类型的实验动物模型和患者慢性肾功能不全进展和预后的一个可靠预测指标<sup>[10]</sup>。虽然肌成纤维细胞的活化在肾纤维化病变和肾功能异常的进展中起着至关重要的作用这一观点已被广泛接受,但对肾脏疾病中调节肌成纤维细胞活化的因素及其根本的调节机制仍相对知之甚少。

1. 肾小管上皮细胞-间充质细胞转型:(1)EMT 的发生:Iwano 等<sup>[11]</sup>研究发现在肾间质纤维化过程中,36% 的新增成纤维细胞由肾小管上皮细胞-间充质细胞转型而来。阻断 EMT 可以减轻 RIF,故其在肾小管间质纤维化过程中起重要作用。表型转化是指在特定环境下,某种细胞由一种生物学表型转变为另一种表型细胞的过程。在胚胎发育中,除了肾脏集合管,肾脏的其他细胞和组织均由生后肾间叶发生,具有同一组织来源的特点。因此,根据一般的病理学规律,肾小管上皮细胞在一定的病理条件下,应该具有转化为间叶细胞的潜能。因此,肾脏中的 EMT 可以视为肾胚胎发育的逆转<sup>[12]</sup>。在病理情况下,肾小管上皮细胞通过一系列程序化的表型变化以上皮标记和功能的丧失为特征,迁移到胞外空间,获得肌成纤维细胞表型表达  $\alpha$ -SMA,分泌大量基质蛋白,启动肾纤维化。(2)EMT 的发生机制:EMT 的启动和完成涉及到许多不同的分子生物学过程。这其中主要包含 4 个关键步骤:①上皮细胞失去黏附能力;② $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白的表达和肌动蛋白重组;③肾小管基膜的破坏;④细胞迁移和侵袭力增强。其完成以小管基膜的降解和经转化形成的间充质细胞迁移离开其来源的上皮细胞层为标志。(3)EMT 信号转导及调节机制:EMT 是一个受多种外在调节因子和胞内调节因子间相互作用的有序过程。这其中 TGF- $\beta$  是促进肾小管上皮细胞转型的重要环节,其信号转导是通过膜受体丝氨酸/苏氨酸激酶复合物和胞内调解因子 Smads 蛋白。与 TGF- $\beta$  配体结合后,TGF- $\beta$

I 型和 II 型受体形成复合物,导致 Smad 蛋白家族成员 Smad2 和 Smad3 磷酸化。Valcourt 等研究发现 Smad2 和 Smad3 过度表达导致乳腺上皮细胞模型中 EMT 的增加。而 Sato 等用 Smad3 基因敲除小鼠研究表明 Smad3 基因缺失可以减轻 EMT 并改善 UUO 模型肾纤维化。磷酸化的 Smad2 和 Smad3 与胞质中的 Smad4 结合形成异聚体,并转移入核内通过与靶基因调控区的特异性结合模体相互作用进而调控靶基因转录。Smad7 是抑制型 Smad 蛋白,具有负信号调控作用,它过度表达不仅可以阻止 Smad2/3 磷酸化,还可以诱导 TGF- $\beta$ 1 受体去磷酸化和(或)蛋白酶体降解,持续阻断肾脏 UUO 模型体内 Smad3 依赖的 EMT。除了 TGF- $\beta$ /Smads 信号,在肾小管上皮细胞中 TGF- $\beta$ 1 还可能激活其他信号转导通路,如 MAPK, Akt/蛋白激酶 B (PKB),整合素连接酶(ILK)和 WNT/ $\beta$ -连接素信号等<sup>[7]</sup>。肾小管上皮-间充质细胞转型受不同生长因子、细胞因子、激素和细胞外信号的调节。细胞因子在肾小管间质纤维化的形成中发挥重要作用,主要包括促纤维化的 TGF- $\beta$ 1、CTGF、Ang II、EGF、 $\beta$ 1 整合素、TNF、IL-1 等;这其中 TGF- $\beta$ 1 是促进肾纤维化的关键细胞因子,它能在病理条件下触发和完成肾小管上皮细胞向间充质细胞转分化过程,这也是 TGF- $\beta$ 1 导致肾间质纤维化的主要途径之一。和起抑制纤维化作用的 HGF、BMP7(骨形态发生蛋白-7)、BMP2(骨形态发生蛋白-2)等,它们以不同方式作用于诱导 EMT 的信号转导通路,抑制甚至逆转 EMT<sup>[13]</sup>。不同细胞因子如 TGF- $\beta$ 1 和 BMP7 之间的信号平衡,维持着肾小管上皮细胞的分化或 EMT 的发展,在肾纤维化的发病机制中起着非常重要的作用。正常生理情况下,抑制纤维化作用制约着促纤维化作用,从而维持肾脏的正常形态结构及功能,而当抑制作用被减弱时,这一平衡发生紊乱,则会导致纤维化形成。

2. 内皮细胞-间充质细胞转型:Sugimoto 等通过对 3 种不同慢性肾脏病小鼠模型中 EndMT 对肾纤维化的作用研究:①单侧输尿管梗阻小鼠模型(梗阻性肾病模型);②链脲佐菌素诱导糖尿病肾病模型(STZ 诱导糖尿病肾病模型);③系统性缺乏 IV 型胶原  $\alpha$ 3 链的小鼠模型(Alport 肾病模型),证实 EndMT 可能有助于肾小管间质纤维化过程中肌成纤维细胞的出现和在肾间质中积聚。他们发现在所有这 3 种小鼠模型中,相当一部分活化的肌成纤维细胞除了表达自身标记,如成纤维细胞特异蛋白-1(FSP-1)和  $\alpha$ -

平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA),还共表达内皮标记 CD31,这表明这些肌成纤维细胞可能携带内皮细胞的印记。研究发现 3 种模型中所有 FSP-1 阳性的肌成纤维细胞约 30%~50% 由内皮细胞经过 EndMT 而来;虽然 STZ 糖尿病肾病模型的肾纤维化程度较 Alport 肾病模型轻,但其中 EndMT 来源的成纤维细胞比例却很高。UUO 模型表现出与 STZ 模型相似的纤维化程度,但与 STZ 模型相比,UUO 模型中 EndMT 源性的成纤维细胞的比例较低。这表明不同原因所致的肾脏病,特定的触发机制可能导致不同层次的 EndMT。另外,EndMT 在胚胎发育过程中的研究相对成熟,但成人中 End-MT 的机制尚不清楚。因此要阐明肾纤维化中 EndMT 的机制和是否抑制 EndMT 是一个潜在的肾间质纤维化治疗策略,还需要做更多的研究。

3. 固有纤维细胞来源:许多研究中都讨论了 EMT 在肾间质纤维化中的作用,但一直以来对肾纤维化中由固有纤维细胞转变成肌成纤维细胞的可能性很少关注。关于肾纤维化中固有纤维细胞的作用和归宿方面的信息仍很缺乏,尤其是它们是否会发生增殖,是否会分化成肌成纤维细胞等。Picard 等对经典的单侧输尿管梗阻大鼠模型(UUO)肾间质纤维化初始阶段中固有纤维细胞的命运研究发现,UUO 后第 1 天固有纤维细胞表达  $\alpha$ -SMA 增加,逐步获得肌成纤维细胞表型而且细胞分裂的速度极大地增加。这表明,固有纤维细胞可以转化为肌成纤维细胞并可能在 UUO 模型肾纤维化中起关键作用,在相当程度上参与肾纤维化的发展。

4. 骨髓源性肌成纤维细胞来源:近年来对骨髓来源的肌成纤维细胞的认识亦取得进展。Li 等通过对阿霉素(ADR)诱导的慢性进行性肾纤维化小鼠模型研究发现,注射 ADR 4 周后,观察到间质中骨髓源性肌成纤维细胞的数目增加。6 周后,超过 30% 的  $\alpha$ -SMA(+) 间质肌成纤维细胞是由骨髓衍生的。此外,他们观察到骨髓源性的细胞表达内皮细胞标志物 CD31 和肌成纤维细胞标记  $\alpha$ -SMA。阻断 p38/MAPK 和 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路可以抑制骨髓源性  $\alpha$ -SMA(+) 细胞并能促进肾脏结构和功能的恢复和减轻肾间质纤维化。除了上述提及的肌成纤维细胞来源,Humphreys 等利用谱系追踪研究表明,体内纤维化疾病过程中肌成纤维细胞来源于间质性外膜细胞/血管周围的成纤维细胞,而不是肾小管上皮细胞。这更加证明了肾间质纤维化过程中肌成纤维细胞来源的多样化,也增加了其不确定性。

#### 四、展 望

截至目前,EMT 被认为是肌纤维母细胞起源最重要的理论,但关于 EMT 在肾间质纤维化所起的作用也受到了最近的科学研究证据的严峻挑战<sup>[6]</sup>。Kriz 等认为肾间质纤维化体内过程缺乏明确支持 EMT 的证据。各实验得出的结论相差很大,这可能与纤维化的阶段,器官的类型,以及用于研究的特定实验模型有关。但不论何种来源,肌成纤维细胞的形成是各种过程的共同终点。可以推测随着研究的深入,肾纤维化进程中肌成纤维细胞的来源及其产生的机制将会逐渐明确,探究这些问题也将为治疗临床肾脏病所面临的最困难的问题之一确定新的目标。

#### 参考文献

- 1 Iekushi K, Taniyama Y, Azuma J, *et al*. Hepatocyte growth factor attenuates renal fibrosis through TGF- $\beta$ 1 suppression by apoptosis of myofibroblasts[J]. J Hypertens, 2010, 28(12): 2454-2461
- 2 Zeisberg M, Strutz F, Muller GA. Renal fibrosis: an update[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2001, 10(3): 315-320
- 3 Ina K, Kitamura H, Tatsukawa S, *et al*. Significance of  $\alpha$ -SMA in myofibroblasts emerging in renal tubulointerstitial fibrosis[J]. Histol Histopathol, 2011, 26(7): 855-866
- 4 Burns WC, Kantharidis P, Thomas MC. The role of tubular epithelial-mesenchymal transition in progressive kidney disease[J]. Cells Tissues Organs, 2007, 185(1-3): 222-231
- 5 Farris AB, Colvin RB. Renal interstitial fibrosis: mechanisms and evaluation[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2012, 21(3): 289-300
- 6 Barnes JL, Gorin Y. Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases[J]. Kidney Int, 2011, 79(9): 944-956
- 7 Nangaku M. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: final common pathways to end-stage renal failure[J]. Intern Med, 2004, 43(1): 9-17
- 8 Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis[J]. Pediatr Nephrol, 2000, 15(3-4): 290-301
- 9 Yang J, Dai C, Liu Y. Hepatocyte growth factor suppresses renal interstitial myofibroblast activation and intercepts Smad signal transduction[J]. Am J Pathol, 2003, 163(2): 621-632
- 10 Badid C, Vincent M, Fouque D, *et al*. Myofibroblast: a prognostic marker and target cell in progressive renal disease[J]. Ren Fail, 2001, 23(3-4): 543-549
- 11 Iwano M, Plieth D, Danoff TM, *et al*. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis[J]. J Clin Invest, 2002, 110(3): 341-350
- 12 Gupta IR, Lapointe M, Yu OH. Morphogenesis during mouse embryonic kidney explant culture[J]. Kidney Int, 2003, 63(1): 365-376
- 13 Yang YL, Ju HZ, Liu SF, *et al*. BMP-2 suppresses renal interstitial fibrosis by regulating epithelial-mesenchymal transition[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(9): 2558-2565

(收稿日期:2012-06-02)

(修回日期:2012-06-28)