

成纤维细胞在心肌梗死后炎症和修复中的作用

孔春燕 唐其柱

摘要 成纤维细胞由间充质细胞分化而来,广泛分布于各器官结缔组织中。在器官细胞坏死和组织损伤时,损伤区域释放多种细胞因子促进成纤维细胞活化,参与器官炎症和修复过程。心肌梗死发生时,广泛坏死的心肌细胞激活相关信号通路诱发炎症反应并促进成纤维细胞的活化、迁移和分化。成纤维细胞的激活除了可以修复梗死区域维持心脏功能外,又可能造成室壁硬化、功能失常乃至心力衰竭。成纤维细胞的炎症和修复机制在心肌梗死后的治疗和心肌梗死引起的心肌重构中有重要作用。本文就成纤维细胞在心肌梗死后炎症和修复中的作用展开论述。

关键词 成纤维细胞 心肌梗死 炎症反应 细胞外基质 细胞因子

中图分类号 R54 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.043

成纤维细胞由胚胎时期的间充质干细胞分化而来,广泛存在于心脏、肾脏、肝脏、皮肤等器官间质中,可增殖、分化为纤维细胞并参与组织结构稳定性的维持,同时也具有很强的可塑性,在外周微环境改变时,展现为不同表型以适应器官结构功能^[1]。成纤维细胞的活化主要发生于器官组织损伤等细胞周围微环境改变时^[2]。活化的成纤维细胞表达成纤维细胞激活蛋白 α (fibroblast activation protein α , FAP α)。FAP α 是表达于成纤维细胞膜表面的膜结合丝氨酸蛋白酶,为两个亚基构成的二聚体,具有分解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 和 I 型胶原的活性;此外,活化的成纤维细胞还可以表达二肽酰基多肽酶 IV (同为丝氨酸蛋白酶),并促进基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 合成^[3]。

成纤维细胞是心脏中常见的组成细胞,在正常心脏中的占比与种属及发育阶段密切相关。早期 Zak 和 Nag 等的研究量化了成年大鼠左心室中细胞数量和组成,后来进一步的研究扩大到整个心脏,结果显示非心肌细胞 (成纤维细胞、内皮细胞、周细胞等) 的比例约为 70%。Banerjee 等^[4] 使用流式细胞仪分析小鼠心脏,显示 45% 的细胞是非肌细胞,其中心肌成纤维细胞占主导地位,约为 55%。心肌成纤维细胞、

内皮细胞、周细胞等缺少特异性标志物,因此非心肌细胞的准确量化存在困难。在心脏正常发育中,大部分心肌成纤维细胞是由心外膜细胞分化而成的^[5,6]。心肌成纤维细胞亚群主要位于室间隔内,在瓣膜中通过内皮-层间质转移从心内膜衍生出。而在右心房中发现的小部分心肌成纤维细胞则来源于神经嵴。尽管心肌成纤维细胞在正常心脏中所占比例比之前描述的要少,但成纤维细胞在心脏中仍是一种中枢细胞类型。心肌成纤维细胞不仅通过维持 ECM 的内稳态来保护心脏结构的完整性,为心肌细胞提供一个支架,还在梗死后心室修复和重构中起关键作用。

当心脏主要灌注动脉发生梗阻时,心肌细胞缺血坏死,造成心肌梗死 (myocardial infarction, MI)。梗死的心肌细胞释放损伤相关分子模式识别受体 (damage associated molecular patterns, DAMPs)。位于成纤维细胞表面的模式识别受体如 toll 样受体、核苷酸结合寡聚类受体和维甲酸诱导基因 I 受体或非典型模式识别受体,可以识别 DAMPs 进而激活成纤维细胞^[7]。活化的成纤维细胞表达 FAP α 、二肽酰多肽酶 IV 和 MMPs,分解受损区域 ECM 和 I 型胶原,清除受损细胞和组织碎片,释放与 ECM 相结合的生长因子,发挥促生长作用。同时,为中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞的浸润开辟通路,为非心脏定居成纤维细胞的转移以及内皮细胞迁移和血管的生成提供条件。活化的成纤维细胞可以表达生长因子并促进 ECM 生成,使得胶原和非胶原 ECM 在 MI 区域沉积形成胶原-纤维蛋白网络维持心脏的结构功能。因此,成纤维细胞的活化在 MI 后的炎症反应和修复活

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (重点项目) (81530012); 国家自然科学基金资助项目 (81470516, 81700254); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2042017kf0085)

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科、武汉大学心血管病研究所、心血管病湖北省重点实验室

通讯作者:唐其柱,教授,博士生导师,电子信箱:qztang@whu.edu.cn

动中扮演着重要角色。

一、成纤维细胞与炎症反应和组织修复的关系

传统意义上,成纤维细胞被认为是合成细胞外基质的静态细胞,近年来多项研究表明成纤维细胞在免疫系统中也作为关键活跃细胞存在。这说明在组织损伤中成纤维细胞不仅参与组织的损伤修复,还在炎症反应中发挥作用。成纤维细胞的增殖、活化和累积可以填补坏死组织区域细胞空缺,并产生大量 ECM 构成细胞外周间质,达到维持结构和功能完整性的目的。但是过度的胶原和非胶原 ECM 的沉积也可以导致器官纤维化过程,导致结构和功能失调。成纤维细胞参与的炎症和免疫反应是纤维化过程的基础,其中先天免疫和适应性免疫系统都有参与^[8]。

组织损伤时,受损的上皮和内皮细胞释放 DAMPs,刺激成纤维细胞释放生长因子和趋化因子,使中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和肥大细胞先后活化并向受损部位转移。中性粒细胞作为最先出现的免疫细胞释放大量的活性氧参与损伤组织处的炎症反应^[9]。

巨噬细胞是组织重构和纤维化过程的重要效应细胞,在组织损伤中也受到活化的成纤维细胞的激活。成纤维细胞刺激巨噬细胞产生 MMPs 和其内源性抑制物 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs),两者的内在平衡是 ECM 沉积和降解的关键。除了 MMPs,巨噬细胞也是 TGF- β 的主要生产者,促进细胞外基质的产生和损伤的修复^[10]。

随后适应性免疫中,成纤维细胞刺激 T 细胞和 B 细胞的活化。成纤维细胞促进 Th1、Th2 和 Th17 细胞活化,活化的 T 细胞分别产生干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、白介素-13 (interleukin-13, IL-13) 和白介素-17 α (interleukin-17 α , IL-17 α)。IFN- γ 控制巨噬细胞的分化、转移和激活,促进损伤修复。IL-13 是调节纤维蛋白产生最显著的细胞因子,通过 c-jun NH2 末端激酶依赖的方式和 IL-4 结合可以诱导人成纤维细胞的表型转变为肌成纤维细胞参与修复。IL-13 也可以抑制成纤维细胞 MMPs 合成,进而下调基质降解,使得胶原沉积。IL-17 α 诱导促炎性因子表达,招募和激活中性粒细胞,从而刺激损伤组织炎症反应。受成纤维细胞激活的 B 细胞表达细胞因子 IL-6,趋化因子 2 (chemokine ligand 2, CCL2) 和 TGF- β ,引导炎症细胞转移和浸润。

二、心肌梗死后心肌重构

心肌重构是在心脏损伤或血流动力学变化时,心

肌细胞基因表达发生改变所引起的心脏结构的改变。心肌重构以心肌细胞纤维增多、细胞骨架的改变、心肌细胞收缩装置结构改变和能量代谢的异常为主要表现。心肌重构后,心肌细胞代谢和结构异常使得能量供应达不到心肌细胞活动的需要,导致心肌损伤和心功能恶化,严重时可导致心力衰竭。心肌重构可由 MI 引起。在 MI 发生时,心肌组织急性缺血缺氧导致心肌细胞坏死,此时梗死区域可出现胶原沉积、瘢痕形成、纤维化、非心肌细胞肥大和心肌细胞肥大等代偿性的心肌重构,以平衡心室壁压力和维持心脏功能。

MI 后的心肌重构是一个持续的过程,该过程包括炎症反应和组织瘢痕修复两个主要阶段。MI 最初的几天至几周,心肌细胞释放细胞因子,激活多重炎症反应。成纤维细胞释放多种基质金属蛋白酶类,降解基质胶原纤维和心肌细胞碎片,为炎症细胞浸润开辟通道。细胞因子 TGF- β 增加成纤维细胞趋化性和增殖活性,促进巨噬细胞活化。白细胞从循环转移至梗死区域产生炎症因子促进炎症反应,T 细胞和 B 细胞受到激活分化为效应细胞参与坏死结构的清除。MI 后的早期炎症反应不仅清除了坏死细胞和基质,减少了有害物质,如氧自由基的产生和梗死面积的扩大,还为组织的瘢痕修复提供了空间和结构基础。在后续的几个月至几年中,梗死区域由纤维化瘢痕替代以维持心脏结构和功能^[11]。MI 后的纤维化过程分为两种类型:修复性纤维化和反应性纤维化。修复性纤维化,即瘢痕形成,是预防心肌缺血性损伤后心室壁破裂的关键过程,主要发生在 MI 早期修复阶段^[12]。然而,MI 后机械应力的增加再加上激素和旁分泌调节因子的作用可导致反应性纤维化。反应性纤维化时,梗死区域周围的结缔组织继续向周围扩张,在梗死边缘区和未受伤的心肌中也发生纤维化。

MI 后的心肌重构会导致心室顺应性下降、室壁硬度增加从而降低心排出量。除了对心脏收缩力的影响之外,纤维化瘢痕也被证明会干扰心肌细胞正常的电生理活动,从而导致心律失常^[13]。致密的瘢痕区是绝缘的非兴奋区,锚定室壁可以导致持续性室性心动过速。在心肌细胞间质的纤维化中,心肌细胞之间的非传导性纤维胶原网络可能通过诱导焦点异位活动,减慢或阻断传导而导致折返性心动过速。此外,肌成纤维细胞和心肌细胞的电子偶合可能在纤维化引起的心律失常中发挥作用^[14]。毫无疑问,MI 导致的代偿性心肌重构已成为 MI 后心律失常和心力

衰竭的主要危险因素,大大地提高了心血管疾病的整体病死率^[15]。

三、成纤维细胞在心肌梗死中的作用

成年哺乳动物的心肌细胞数目不会增加,成熟机体的心肌细胞不会增殖分化出新的心肌细胞。心肌损伤后心肌细胞的再生修复能力十分有限,心肌细胞一旦发生坏死或者凋亡,该区域丢失的细胞则被非心肌细胞取代。MI 后的心脏修复过程是一个精细的过程:损伤修复的任何步骤出现误差都会引发灾难性的后果,如心室扩张、心肌纤维化或室壁瘤、心脏破裂。最终可导致死亡的发生。成纤维细胞在 MI 后的炎症反应和修复中均发挥有重要作用。

在 MI 后,心肌结构的完整性受到破坏使成纤维细胞暴露于机械压力下,损伤上皮和内皮通过膜受体 TLRs (toll like receptors, TLRs) 激活成纤维细胞。活化的成纤维细胞释放生长因子 (TGF- β 等) 并表达基质蛋白酶,促进基质胶原和蛋白的分解、释放与基质胶原等结合的生长因子。受损的上皮细胞和内皮细胞释放细胞因子引发成纤维细胞反应后,活化的成纤维细胞可引起生长因子和趋化因子联合作用,诱导中性粒细胞和单核细胞大量流入 MI 区域。中性粒细胞作为最先反应的炎症细胞,在被成纤维细胞激活后,启动急性炎症反应,吞噬坏死细胞和组织碎片,以促进 MI 修复。然而,过度和持续的中性粒细胞浸润或延迟消除可通过炎症介质和蛋白酶的释放加剧 MI 程度^[16]。中性粒细胞通过 NADPH 氧化酶释放大量活性氧和颗粒酶 (MMPs、弹性蛋白酶等) 刺激成纤维细胞活化和心脏纤维化^[17]。实验表明抑制 NADPH 氧化酶对成纤维细胞活化以及心肌梗死后心肌纤维化均有抑制作用^[18]。

适应性免疫中,成纤维细胞可使 B 细胞分化为浆细胞发挥作用。浆细胞可分泌因子 IL-6 引发心肌基质细胞向肌纤维化细胞转化,又可促进成纤维细胞增殖、胶原增加和 TIMP 合成;最近的一项研究表明 B 细胞活化因子是胶原蛋白、TIMP、MMP-9 等在成纤维细胞中表达的诱导因子,也促进促炎性和亲纤维化因子 IL-6、CCL2 的合成和释放。T 细胞表达的 IL-17 α 诱导促炎性调节因子 IL-1、IL-6、TNF- α 、CXCL-8 和集落刺激因子的表达,诱导成纤维细胞向 MI 区域的迁移和向肌成纤维细胞的转化;另外,IL-17 α 通过 NF- κ B、AP-1 和 CCAAT 增强结合蛋白 (C/EBP)- β 的激活增加成纤维细胞 MMP-1 的表达和激活蛋白激酶 C (PKC) β /Erk1/2/

NF- κ B 通路减轻纤维化程度^[19]。这些炎症相关的刺激因子、细胞因子和生长因子诱导成纤维细胞的增殖、迁移到梗死区域,并转化为肌成纤维细胞。肌成纤维细胞是表现成纤维细胞和平滑肌细胞特性的细胞,在健康的心肌中不表达^[12]。肌成纤维细胞最突出的特点是它们的迁徙和收缩表型,表现为 α -SMA 和非肌肉肌浆球蛋白的合成。同时,细胞质中也存在广泛的内质网用于合成和分泌大量的 ECM 蛋白,用于损伤后的结构修复和功能稳定^[20]。

在 MI 炎症反应和瘢痕成熟阶段,首先是炎症反应期,坏死的心肌细胞能够释放大量 DAMPs,激活固有免疫通路。实验证明坏死的心肌细胞释放 IL-1 α 通过细胞膜表面 TLRs 激活成纤维细胞向 MI 区域迁移并促进白细胞等炎症细胞浸润^[21]。IL-1 信号诱导 MMP 的表达促进基质降解。在此期间,IL-1 抑制成纤维细胞增殖,抑制成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,延迟瘢痕组织形成及修复反应过程,直到梗死区域死细胞和基质碎片被清除^[10]。随后在瘢痕成熟阶段,适应性免疫被激活。成纤维细胞在 IL-17 α 等转化生长因子的刺激下活化为肌成纤维细胞,使得 ECM 合成增多、胶原基质沉积、细胞间连接形成,梗死区域纤维化瘢痕形成暂时性的维持了心脏的结构和功能。

肌成纤维细胞在瘢痕形成后数量急剧下降,但是 MI 发生多年后仍可在愈合瘢痕处找到一定的肌成纤维细胞,残存的肌成纤维细胞对维持瘢痕处的力量和舒缩性有重要作用,也是适应性瘢痕产生的重要条件^[22]。但是长期存在的活化的肌成纤维细胞和持续产生炎症细胞因子,特别是在非梗死区域的心肌组织中造成持续性炎症反应,神经内分泌调节紊乱,血管壁硬化,心脏功能不足,最终可导致心力衰竭。

四、展 望

成纤维细胞在心肌层中分布广泛。MI 时,成纤维细胞可以通过巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等炎症细胞的刺激而活化为肌成纤维细胞从而参与炎症反应过程;活化的肌成纤维细胞还可以合成和释放转化生长因子促进细胞外基质的形成和胶原的沉积从而参与组织修复过程。成纤维细胞的分布特性及其在心肌梗死过程中的作用,使它成为心肌梗死后的重要效应细胞。尽管心肌梗死早期成纤维细胞的活动有利于坏死组织的清除和新胶原和非胶原基质的形成,有减少心室壁破裂风险、维持心脏结构和功能的作用;但是 MI 区域修复后成纤维细胞的持续存在和适应

性纤维瘢痕的产生,可引起心肌细胞细胞外间质纤维化,使得心室壁顺应性下降、弹性减少或消失,心脏舒缩功能失代偿,甚至有心脏破裂、心力衰竭等严重后果。在心肌梗死时,控制免疫系统中性粒细胞、巨噬细胞、T 细胞和 B 细胞等的激活程度及其相关细胞因子的产生,对于成纤维细胞的增殖、转移和分化有一定的控制作用。因此,可以从成纤维细胞在心肌梗死后的炎性反应和修复反应中起到的作用入手,探索控制成纤维细胞修复心肌梗死区域和防止心脏纤维化的作用靶点,从而减少心肌梗死修复后适应性瘢痕的产生,减轻心室重构。

参考文献

- 1 Daskalopoulos EP, Hermans KC, Blankesteijn WM. Cardiac (myo) fibroblast: novel strategies for its targeting following myocardial infarction[J]. *Curr Pharm Des*, 2014,20(12):1987-2002
- 2 Shinde AV, Frangogiannis NG. Fibroblasts in myocardial infarction: a role in inflammation and repair[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014,70:74-82
- 3 Tillmanns J, Hoffmann D, Habbaba Y, *et al.* Fibroblast activation protein alpha expression identifies activated fibroblasts after myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015,87:194-203
- 4 Souders CA, Bowers SL, Baudino TA. Cardiac fibroblast: the renaissance cell[J]. *Circ Res*, 2009,105(12):1164-1176
- 5 Banerjee I, Fuseler JW, Price RL, *et al.* Determination of cell types and numbers during cardiac development in the neonatal and adult rat and mouse[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007,293(3):H1883-H1891
- 6 Deb A, Ubil E. Cardiac fibroblast in development and wound healing[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014,70:47-55
- 7 Moore-Morris T, Cattaneo P, Pucaat M, *et al.* Origins of cardiac fibroblasts[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016,91:1-5
- 8 Mann DL. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited[J]. *Circ Res*, 2015,116(7):1254-1268
- 9 Chen W, Frangogiannis NG. Fibroblasts in post-infarction inflammation and cardiac repair[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013,1833(4):945-953

- 10 Van Linthout S, Miteva K, Tschöpe C. Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells[J]. *Cardiovasc Res*, 2014,102(2):258-269
- 11 Yu M, Wen S, Wang M, *et al.* TNF-alpha-secreting B cells contribute to myocardial fibrosis in dilated cardiomyopathy[J]. *J Clin Immunol*, 2013,33(5):1002-1008
- 12 Szibor M, Poling J, Warnecke H, *et al.* Remodeling and dedifferentiation of adult cardiomyocytes during disease and regeneration[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014,71(10):1907-1916
- 13 Meijers WC, van der Velde AR, Pascual-Figal DA, *et al.* Galectin-3 and post-myocardial infarction cardiac remodeling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015,763(Pt A):115-121
- 14 Kim KW, Park SH, Kim JC. Fibroblast biology in pterygia[J]. *Exp Eye Res*, 2016,142:32-39
- 15 Francis SS, De Jesus NM, Lindsey ML, *et al.* The crossroads of inflammation, fibrosis, and arrhythmia following myocardial infarction[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016,91:114-122
- 16 Kohl P, Gourdie RG. Fibroblast-myocyte electrotonic coupling: does it occur in native cardiac tissue? [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014,70:37-46
- 17 Gulati A, Jabbour A, Ismail TF, *et al.* Association of fibrosis with mortality and sudden cardiac death in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy[J]. *JAMA*, 2013,309(9):896-908
- 18 Moore-Morris T, Guimaraes-Camboa N, Yutzev KE, *et al.* Cardiac fibroblasts: from development to heart failure[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2015,93(8):823-830
- 19 Liu XH, Pan LL, Deng HY, *et al.* Leonurine (SCM-198) attenuates myocardial fibrotic response via inhibition of NADPH oxidase 4[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013,54:93-104
- 20 Pinto AR, Illykh A, Ivey MJ, *et al.* Revisiting cardiac cellular composition[J]. *Circ Res*, 2016,118(3):400-409
- 21 Ivey MJ, Tallquist MD. Defining the cardiac fibroblast[J]. *Circ J*, 2016,80(11):2269-2276
- 22 Frangogiannis NG. Inflammation in cardiac injury, repair and regeneration[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2015,30(3):240-245

(收稿日期:2018-06-15)

(修回日期:2018-08-27)

(接第 188 页)

- 18 Decker WK. In this issue: cellular stress and the interface of innate and adaptive immunity, and other topics[J]. *Int Rev Immunol*, 2015,34(5):365-366
- 19 Netea MG, Joosten LA. Adaption and memory in innate immunity[J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(4):317-318
- 20 Saeed S. Epigenetic programming of monocyte-to-macrophage differentiation and trained innate immunity[J]. *Science*, 2014, 345(6204):1251086
- 21 Kaufmann E, Sanz J. BCG educates hematopoietic stem cells to gen-

erate protective innate immunity against tuberculosis[J]. *Cell*, 2018, 172(1-2):176-190

- 22 Pham OH, McSorley SJ. Divergent behavior of mucosal memory T cells[J]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8(4):731-734
- 23 Osorio J. Innate immunity: memory NK cells identified in primates[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(9):526-527
- 24 Lerm M, Netea MG. Trained immunity: a new avenue for tuberculosis vaccine development[J]. *J Intern Med*, 2016, 279(4):337-346

(收稿日期:2018-07-17)

(修回日期:2018-08-16)