

# 细胞自噬与肺纤维化疾病

杨玉婷<sup>1,2</sup>, 贾强<sup>2</sup>, 邵华<sup>2</sup>

(1. 济南大学/山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250062; 2. 山东省医学科学院/山东省职业病与职业病防治研究院, 山东 济南 250062)

**摘要:** 肺纤维化是多种肺疾病常见的终末期病理学改变, 其发生发展是由多种细胞、细胞因子、蛋白酶共同参与控制。研究表明, 细胞自噬在肺部炎症和纤维化过程中发挥着重要作用, 可以通过抑制炎性细胞因子和促纤维化因子的分泌、降解成纤维细胞中的胶原蛋白以及抑制上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程, 达到减轻肺纤维化的作用。本文就细胞自噬在特发性肺纤维化 (IPF)、肺囊性纤维化 (PCF) 和矽肺所致肺纤维化 (silicotic pulmonary fibrosis) 中的作用及机制进行简要归纳, 为今后工作提供参考。

**关键词:** 细胞自噬; 特发性肺纤维化 (IPF); 肺囊性纤维化 (PCF); 矽肺所致肺纤维化

**中图分类号:** R563 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2019)02-0113-03 **DOI:** 10.13631/j.cnki.zggyyx.2019.02.011

## Autophagy and pulmonary fibrosis

YANG Yu-ting\*, JIA Qiang, SHAO Hua

(\* . School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250062, China)

**Abstract:** Pulmonary fibrosis is a common end-stage of pathological change in many lung diseases, its occurrence and development are controlled by a variety of cells, cytokines and proteases. Studies have shown that autophagy plays an important role in the processes of pulmonary inflammation and fibrosis, which can alleviate pulmonary fibrosis by inhibiting the secretion of inflammatory cytokines and fibroblast-promoting factors, degrading the collagen in fibroblasts and inhibiting the process of epithelial-mesenchymal transition (EMT). This paper, will give a brief summary on the role and mechanism of autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), pulmonary cystic fibrosis (PCF) and silicosis pulmonary fibrosis thereby provide some reference for future work.

**Key words:** cell autophagy; idiopathic pulmonary fibrosis (IPF); pulmonary cystic fibrosis (PCF); silicotic pulmonary fibrosis

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是多种原因引起的以成纤维细胞过度增殖及大量细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 沉积为特征的一类肺部疾病的终末期改变<sup>[1]</sup>。近年来肺纤维化疾病的发病率和病死率呈不断上升趋势, 肺纤维化的种类主要包括特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)、肺囊性纤维化 (pulmonary cystic fibrosis, PCF) 和矽肺 (pulmonary silicosis) 等。肺纤维化的发病机制十分复杂, 其病理过程通常为早期肺部急性炎症反应以及后期的胶原沉积、纤维化变性和肺组织结构变形<sup>[2]</sup>。肺纤维化的主要临床表现为呼吸困难、干咳、乏力、杵状指、发绀, 且随病情和肺部损伤加重, 呼吸功能不断恶化, 严重妨碍病人正常工作和生活, 甚至可因呼吸衰竭或心力衰竭而死亡。目前,

肺纤维化尚无有效根治的药物及方法, 而且发病率仍处于逐年增长的趋势, 因此发现新的治疗靶点对肺纤维化疾病的预防和治理非常重要。

近年来, 自噬作为除凋亡以外的另一种重要程序性细胞死亡方式, 已被证实参与了多种疾病进程。正常情况下, 自噬可通过降解细胞内异常蛋白质、受损或多余的细胞器、细胞内的病毒和细菌, 以维持细胞功能<sup>[3-5]</sup>。缺氧、营养不足、生长因子缺乏、微生物感染、内质网应激和氧化应激等因素都能诱发细胞自噬<sup>[6]</sup>。肺作为气体交换的主要器官, 经常暴露于各种外界刺激因素, 影响自噬水平, 从而调节肺部疾病的病理进程。当机体被感染时, 细胞自噬可以通过吞噬并降解侵入的细菌和病毒参与机体的免疫反应<sup>[7]</sup>, 也可通过抑制炎性细胞因子的依赖性成熟、促炎因子的分泌以及增加抗炎细胞因子的分泌, 抑制炎症反应。同时, 自噬也是纤维化调节因子, 可以抑制纤维细胞中胶原蛋白沉积和上皮间质转化 (EMT), 抑制纤维化进程<sup>[8,9]</sup>。本文总结自噬在特发性肺间质纤维化、肺囊性纤维化、矽肺等常见肺纤维化疾病中的作用, 为肺纤维化疾病的治疗和预防提供依据。

**收稿日期:** 2018-10-19; **修回日期:** 2019-01-15

**基金项目:** 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程, 国家自然科学基金项目 (81872603); 山东省重点研发计划项目 (2016GSF201047); 山东省自然科学基金 (ZR2016YL015, ZR2017YL001); 山东省医药卫生科技发展计划项目 (2017WS438)

**作者简介:** 杨玉婷 (1993—), 女, 硕士研究生, 主要从事职业有害因素对呼吸系统作用的研究。

**通信作者:** 邵华, 研究员, 博士生导师, E-mail: chinashaohua5888@163.com; 贾强, 副研究员, 硕士生导师, E-mail: jiaqiang5632@163.com。

## 1 自噬与肺部炎症

肺部受到感染或者损伤后, 肺泡巨噬细胞首先被活化并

释放大量细胞因子和炎性介质,在早期肺部炎症中起主要作用<sup>[10]</sup>。其中,转化生长因子 $\beta$  (TGF- $\beta$ )、血小板衍生因子(PDGF)和胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)等致纤维化因子,会启动肺纤维化过程。同时,在细胞因子的作用下,成纤维细胞会聚集增生并产生大量胶原纤维<sup>[10]</sup>。

Shi等研究发现<sup>[11]</sup>,当巨噬细胞受到细菌、病毒等刺激后,AIM2和NLRP3炎性小体被激活,导致白介素 $1\beta$  (IL- $1\beta$ )和IL-18等炎性因子的水平升高,伴随自噬相关蛋白微管相关蛋白1轻链3 (microtubules associated protein 1 light chain 3, LC3)和酵母自噬相关基因6 (beclin1)的表达水平也显著升高,自噬活动增加;而模型组细胞受到自噬抑制剂的干预后,IL- $1\beta$ 、IL-18的水平升高更加明显。二氧化硅致小鼠肺纤维化实验发现,与对照组小鼠相比,Atg5fl/fl LysM-Cre+小鼠(自噬基因缺陷小鼠)在受到二氧化硅刺激后,肺泡灌洗液中的巨噬细胞NLRP3炎性小体活性显著增强,白介素18 (IL-18)和高迁移率族蛋白1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)表达水平显著升高,巨噬细胞的死亡数目显著增加<sup>[12]</sup>。这都说明抑制自噬会促进肺部炎症反应的进展。

在这一过程中自噬作为负反馈调节,可以通过抑制炎症因子的产生来抑制炎症的发生,包括对炎症细胞因子依赖性成熟和促炎细胞因子分泌的抑制、增加抗炎细胞因子的分泌<sup>[13]</sup>。肺纤维化疾病发生早期主要表现为肺部炎症反应,所以自噬在抑制炎症反应的同时,也能够减缓肺纤维化的进展。

## 2 自噬与特发性肺间质纤维化

IPF发病特征为肺泡、肺间质、肺小血管和终末气道不同程度的炎症损伤,以及损伤后的修复和纤维化<sup>[14,15]</sup>。在IPF疾病进程的不同阶段,自噬活动也呈现不同变化,在博来霉素诱导的IPF模型研究中,大鼠在实验初期自噬相关蛋白LC3和Beclin1的表达水平明显高于对照组,自噬活动增强;随着博来霉素作用时间的增加,模型组大鼠肺组织中Vps34-Beclin1复合体的表达量显著降低,免疫荧光结果也发现自噬相关基因5 (autophagy related gene 5, Atg5)表达量显著降低<sup>[16]</sup>。其原因可能为肺泡上皮细胞损伤后会促进肺部炎症细胞的浸润以及炎性因子的释放,导致肺泡上皮细胞凋亡和肺部炎症,此时自噬的激活可以调节炎症反应并抑制细胞凋亡以保护肺组织<sup>[8,17]</sup>。随着博来霉素致肺纤维化过程中自由基的过度表达和促纤维细胞因子的不断产生,自噬活动受到抑制,并导致肺纤维化程度的加重。

在博来霉素诱导的小鼠IPF模型中,自噬诱导剂雷帕霉素可以减少肺组织中肥大细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、T细胞和B细胞的浸润,而且T细胞和B细胞产生的致纤维化细胞因子TGF- $\beta$ 的表达水平以及肺组织中羟脯氨酸含量都明显降低<sup>[18,19]</sup>。

上述研究表明,激活自噬可以抑制博来霉素诱导的肺纤维化的进程,以自噬为靶点的药物开发对IPF治疗具有非常重要的应用前景。

## 3 自噬与肺囊性纤维化

肺囊性纤维化的发病特征为持续的肺部细菌感染,气道

壁增厚以及分泌物异常增多<sup>[20]</sup>。Kishta等<sup>[21]</sup>在自噬与肺囊性纤维化关系的研究中发现,与对照组相比,铜绿假单胞菌感染3d后小鼠肺组织LC3蛋白以及自噬相关基因mRNA的表达水平明显升高,并在第7天恢复到正常水平,说明在PCF早期自噬活动增强,但随着疾病的进展自噬活动受到抑制<sup>[21]</sup>。而当给予模型组雷帕霉素干预后,Beclin1表达水平的明显升高和p62表达水平明显降低,说明自噬被激活,此时肺部炎症反应明显减弱,CFTR突变体向细胞表面的转运被明显抑制,改善了气道上皮细胞的CFTR功能,抑制了肺囊性纤维化进程<sup>[22,23]</sup>。

尽管雷帕霉素对PCF有明显治疗效果,但在临床上发现雷帕霉素会引起严重的毒副作用,如头痛、恶心、头晕、鼻出血和关节疼痛等。研究发现雷帕霉素治疗组小鼠生长速度明显减缓,即使使用剂量较低,生长迟缓效应也很明显,并且大脑生长速度也明显减缓,因此雷帕霉素不适用于年轻的PCF患者的治疗<sup>[22,24]</sup>。

## 4 自噬与矽肺纤维化

矽肺是由于在职业活动中长期吸入游离二氧化硅粉尘,并在肺内滞留而引起的以肺组织弥漫性纤维化为主的全身性疾病<sup>[25]</sup>。巨噬细胞吞噬矽尘后,诱发本身氧化应激反应和炎性因子的释放,导致肺部炎性和纤维化反应<sup>[26]</sup>。氧化应激中产生的ROS是诱导自噬发生的重要因素,Wang<sup>[27]</sup>在实验中发现,通过上调活性氧/c-JunN端激酶 (ROS/JNK)信号传导,可以激活自噬。反过来自噬能通过不同的信号通路来减轻氧化应激造成的损伤,维持细胞功能<sup>[26]</sup>。

研究发现<sup>[28]</sup>,矽肺患者支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞的自噬相关蛋白Beclin1和LC3的表达水平均明显高于对照组,证明矽肺患者巨噬细胞存在自噬激活现象。与对照组相比,SiO<sub>2</sub>暴露组小鼠肺泡灌洗液中巨噬细胞LC3的表达水平明显升高;GFP-LC3小鼠在SiO<sub>2</sub>暴露7d后,其肺泡灌洗液中分离的细胞的GFP-LC3绿色荧光也显著增多,这些结果证明SiO<sub>2</sub>刺激可以增强小鼠体内的自噬活动<sup>[12]</sup>。有研究者用透射电镜对矽肺患者和染矽尘大鼠肺组织的自噬体数量进行观察,发现不同接尘时间,肺组织自噬强弱不同<sup>[6,29]</sup>。上调自噬相关蛋白LC3的表达水平,下调p62的表达水平,提高肺组织自噬活性,可以降低SiO<sub>2</sub>暴露组小鼠纤连蛋白、波形蛋白、 $\alpha$ -SMA和胶原蛋白I的表达水平,减弱肺组织纤维化细胞的增殖并抑制肺纤维化的进展<sup>[8]</sup>。

上述研究表明,矽肺发生的不同阶段肺组织细胞自噬强弱也不相同,提高自噬活性可以减轻肺组织炎症反应,抑制肺纤维化进程,但是其作用机制并不明确。IPF和PCF在脱离致病因素刺激后,经过抗纤维化治疗肺纤维化在一定程度上是可逆的;但矽尘被巨噬细胞吞噬后,会反复刺激肺组织产生持续的炎症反应,且不可逆。所以需要进一步观察比较矽肺纤维化与IPF、PCF纤维化过程中自噬作用及机制的差异。

大部分研究发现激活自噬可以抑制肺纤维化疾病早期的炎症反应,并能减缓纤维化的进程,发挥保护作用,是肺纤维化疾病治疗的潜在靶点。目前,雷帕霉素作为自噬激动剂

已经应用于临床特定疾病的治疗<sup>[30,31]</sup>。但是雷帕霉素全身给药的方式会破坏正常细胞的自噬水平,所以其在发挥一定治疗作用的同时也产生了严重的毒性作用。因此,需要开发针对特异靶部位给药的自噬激动剂,即发挥治疗作用、又能减轻全身的毒副作用。另外,需要进一步明确自噬调控肺纤维化疾病不同阶段的具体机制,以有助于提高肺纤维化疾病治疗的有效性。

#### 参考文献:

- [1] Datta A, Scotton CJ, Chambers RC. Novel therapeutic approaches for pulmonary fibrosis [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2011, 163 (1): 141-172.
- [2] Segawa S, Goto D, Iizuka A, *et al.* The regulatory role of IFN- $\gamma$  producing gammadelta T cells via the suppression of Th17 cell activity in bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 2016, 185 (3): 348-360.
- [3] Chen J, Yao Y, Su X, *et al.* Comparative RNA-Seq transcriptome analysis on silica induced pulmonary inflammation and fibrosis in mice silicosis model [J]. *J Appl Toxicol*, 2018, 38 (5): 773-782.
- [4] Deretic V, Saitoh T, Akira S. Autophagy in infection, inflammation and immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13 (10): 722-737.
- [5] Patel AS, Lin L, Geyer A, *et al.* Autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2013, 7 (7): e41394.
- [6] Binger KJ, Muller DN. Autophagy and the (Pro) renin receptor [J]. *Front Endocrinol*, 2013 (4): 155.
- [7] 刘焯, 余娇, 蔡艳星, 等. 自噬在炎症性疾病中的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (6): 527-529.
- [8] Han R, Ji X, Rong R, *et al.* MiR-449a regulates autophagy to inhibit silica-induced pulmonary fibrosis through targeting Bcl2 [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2016, 94 (11): 1267.
- [9] Hernandez-Gea V, Ghiassi-Nejad Z, Rozenfeld R, *et al.* Autophagy releases lipid that promotes fibrogenesis by activated hepatic stellate cells in mice and in human tissues [J]. *Gastroenterology*, 2012 (142): 938-946.
- [10] 孔琪, 秦川. 肺纤维化的发病机制及关键靶点 [J]. *国际呼吸杂志*, 2005, 25 (5): 331-333.
- [11] Shi CS, Shenderov K, Huang NN, *et al.* Activation of autophagy by inflammatory signals limits IL-1 $\beta$  production by targeting ubiquitinated inflammasomes for destruction [J]. *Nature Immunology*, 2012, 13 (3): 255-263.
- [12] Jessop F, Hamilton RF, Rhoderick JF, *et al.* Autophagy deficiency in macrophages enhances NLRP3 inflammasome activity and chronic lung disease following silica exposure [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016 (309): 101-110.
- [13] Dupont N, Jiang S, Pilli M, *et al.* Autophagy-based unconventional secretory pathway for extracellular delivery of IL-1 $\beta$  [J]. *EMBO J*, 2011 (30): 4701-4711.
- [14] 崔社怀. 特发性肺间质纤维化的回顾和展望 [J]. *中华肺部疾病杂志 (电子版)*, 2010, 3 (1): 4-5.
- [15] Jr KT, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet*, 2004, 64 (4): 405-430.
- [16] Divya T, Sureshkumar A, Sudhandiran G. Autophagy induction by celastrol augments protection against bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis in rats: Role of adaptor protein p62/SQSTM1 [J]. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 2017 (45): 47-61.
- [17] Zou W, Wang X, Vale RD, *et al.* Autophagy genes promote apoptotic cell corpse clearance [J]. *Autophagy*, 2012, 8 (8): 1267.
- [18] Yoshizaki A, Yanaba K, Yoshizaki A, *et al.* Treatment with rapamycin prevents fibrosis in tight-skin and bleomycin-induced mouse models of systemic sclerosis [J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2010, 62 (8): 2476-2487.
- [19] Mizumura K, Cloonan S, Choi ME, *et al.* Autophagy: Friend or foe in lung disease? [J]. *Annals of the American Thoracic Society*, 2016, 13 (Suppl 1): S40.
- [20] Ahmed MI, Mukherjee S. Treatment for chronic methicillin-sensitive staphylococcus aureus pulmonary infection in people with cystic fibrosis [J]. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018 (7): CD011581.
- [21] Kishta OA, Guo Y, Mofarrah M, *et al.* Pulmonary pseudomonas aeruginosa infection induces autophagy and proteasome proteolytic pathways in skeletal muscles: Effects of a pressurized whey protein-based diet in mice [J]. *Food & Nutrition Research*, 2017, 61 (1): 1325309.
- [22] Tazi MF, Dakhallah DA, Caution K, *et al.* Elevated Mir1/Mir17-92 cluster expression negatively regulates autophagy and CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) function in CF macrophages [J]. *Autophagy*, 2016, 12 (11): 2026-2037.
- [23] Zeki AA, Yeganeh B, Kenyon NJ, *et al.* Autophagy in airway diseases: A new frontier in human asthma? [J]. *Allergy*, 2016, 71 (1): 5.
- [24] Drion CM, Borm LE, Kooijman L, *et al.* Effects of rapamycin and curcumin treatment on the development of epilepsy after electrically induced status epilepticus in rats [J]. *Epilepsia*, 2016, 57 (5): 688-697.
- [25] 郑柳静. 尘肺病中矽肺和煤工尘肺并发症的 X 射线影像分析 [J]. *现代医用影像学*, 2016, 25 (3): 398-401.
- [26] 高婷, 王子旭, 陈祝茗, 等. ROS 介导的氧化应激与自噬 [J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45 (3): 656-662.
- [27] Wang W, Sun H, Che Y, *et al.* Rasfonin promotes autophagy and apoptosis via upregulation of reactive oxygen species (ROS) /JNK pathway [J]. *Mycology*, 2016, 7 (2): 1-10.
- [28] 韩亚凤, 孙海霞, 王忠艳, 等. 内质网应激及自噬相关蛋白在矽肺患者肺泡巨噬细胞中表达研究 [J]. *中国职业医学*, 2015, 42 (1): 23-28.
- [29] 金玉兰, 袁聚祥, 姚三巧, 等. 矽肺患者肺灌洗液巨噬细胞自噬与凋亡分析 [J]. *环境与职业医学*, 2012, 29 (12): 757-759.
- [30] 何娅妮, 陈佳. 雷帕霉素在肾脏病中的应用现状 [J]. *中华肾病研究电子杂志*, 2014, 3 (4): 11-15.
- [31] 张庆华, 闫华, 李莉, 等. 国产雷帕霉素洗脱支架治疗走过心绞痛的治疗观察 [J]. *实用医学杂志*, 2011, 27 (15): 2833-2835.