

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.14.045

肝纤维化发病机制的研究进展

高 强 李旭光 樊 莉 蒋亚楠 刘 艳[△]

(哈尔滨医科大学药理学教研室 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:肝纤维化(liver fibrosis, LF)是一种可由多种致病因素导致的疾病,由于尚无有效的治疗手段,其已经严重地威胁着全球人的健康。虽然 LF 可以逆转,但更多会发生恶化进而发展为肝硬化和肝癌。目前为止,其发病机制已经可以从多方面被阐述。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是 LF 发展的中心和关键,而其他细胞也成为影响纤维化必不可少的因素。它们以细胞因子为联系,并大量分泌首要的细胞因子-转化生长因子- $\beta 1$ -来刺激 HSCs 的激活和增殖。最终,它们共同导致胶原的沉积和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)结构的紊乱。而这其中,长链非编码 RNA 也积极参与了对纤维化过程的影响。本综述将从细胞、细胞因子、ECM 以及基因等方面对 LF 的发生和发展进行探讨,从而有助于我们明确 LF 的发病机制,并为研发 LF 有效的治疗方法提供方向。

关键词:肝纤维化;发病机制;治疗

中图分类号:R575.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)14-2780-06

The Research Advances of the Pathogenesis of Liver Fibrosis

GAO Qiang, LI Xu-guang, FAN Li, JIANG Ya-nan, LIU Yan[△]

(Pharmacology college of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT: Liver fibrosis (LF), caused by various pathogenic factors, has been seriously threatening people lives worldwide because of few effective therapy or medicine. Although LF could be reversed, it would probably progress to liver cirrhosis and cancer in most cases. The pathogenesis of LF could be expounded from many aspects, in which hepatic stellate cells (HSCs) play a pivotal and key role accompanied by other necessary cells. They communicate with each other by secreting much cytokines including transforming growth factor- $\beta 1$ as a primary factor to initiate the activation and proliferation of HSCs, leading the deposition of collagen and the disorder of extracellular matrix (ECM). In addition, long non-coding RNAs also actively participate in the progression. To help us make clear the pathogenesis of LF and provide new directions for developing more efficient therapeutic tools, the advances of pathogenesis of LF will be summarized from the aspects of cells, cytokine, ECM and gene in this review.

Key words: Liver fibrosis; Pathogenesis; Therapy

Chinese Library Classification(CLC): R575.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)14-2780-06

前言

肝纤维化(liver fibrosis, LF)是各种病因导致的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的形成与降解失衡,使得 ECM 过度沉积并最终可发展为肝硬化和肝癌^[1]。许多病因都可以导致 LF 的发生和发展,比如慢性肝病病毒感染、酗酒以及非酒精性脂肪性肝炎^[2-4]。因此,LF 在全世界具有很高且逐年上升的患病率。更严重的是,即使在病因消除的情况下 LF 仍能够继续发展恶化。研究发现,越来越多的细胞、细胞因子、ECM、以及细胞内基因都能够参与 LF 的发生和发展。它们以肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)为中心并通过细胞因子相互联系和影响,从而共同对 LF 的发生和发展产生不同性质和不同程度的调节作用。而正是因为参与 LF 发生发展的这些因素种类复杂而多变,

仅仅从某几方面并不能很好地解释 LF 的发病机制,更不能真正有效地治疗 LF。此外,人们对于其中的认识还存许多盲点和争议^[5],从而导致目前治疗 LF 的方法或药物还很短缺。那么,在这种情况下正确并深入地了解 LF 的发病机制并从中找出有效的治疗方法显得颇为重要。而本综述主要从细胞、细胞因子、ECM 以及基因等方面,来重点阐述近些年发现的 LF 的发生机制,从而可以更好地认识 LF 并为寻找更为确切的治疗靶点提供可靠依据。因此,这也最终将有助于开发有效的抗 LF 的治疗方法和药物。

1 多种细胞对 LF 发展的影响

肝脏中多种细胞都能够不同程度地参与 LF,而其中起到最主要作用的是肝细胞(hepatocytes, HCs)和 HSCs。

1.1 HCs 对 LF 的发展起决定作用

HCs 表面富有大量微绒毛而呈多面体,是肝内构成规则肝小叶的主要细胞。生理条件下,它们是吸收、合成、代谢和释放多种物质的重要场所。

HCs 可成被大多数毒性物质损伤,如肝炎病毒、酒精及其

作者简介:高强(1989-),男,硕士研究生,主要研究方向:肝纤维化与长链非编码 RNA 的关系

[△] 通讯作者:刘艳,主要研究方向:心血管疾病与肝纤维化疾病,电话:15145117922, E-mail: liuyan_gyp@163.com

(收稿日期:2016-06-10 接受日期:2016-07-10)

代谢物和过多的胆汁酸。之后,HCs 释放的活性氧类物质(reactive oxygen species,ROS)可反过来进一步损伤 HCs。研究表明,慢性肝损伤和纤维化与 ROS 引起的肝脏氧化应激有关^[6]。此外,损伤的 HCs 还可以释放致纤维化介质如转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1,TGF- β 1),从而导致 HSCs 的激活并使其向肌成纤维细胞(myofibroblasts,MFBs)转化。尤其在 LF 后期,HCs 是 TGF- β 1 的主要来源并进一步加剧 LF^[7]。在急性期,受损的 HCs 还能释放炎症因子如白细胞介素(interleukin,IL)-6,从而反过来引起自身释放急性期反应蛋白并募集炎症细胞来进一步促进炎症反应和纤维化^[8]。虽然 HCs 合成胶原的能力不及 HSCs,但却能大量合成纤连蛋白(fibronectin, FN)、MMPs 及 TIMPs,而这些都是参与 LF 发展的重要因子^[9]。

受损的 HCs 可被库普弗细胞(Kupffer cells,KCs)产生的杀伤性可溶性介质清除,也可以发生自身凋亡^[10]。研究发现,丙型肝炎病毒和酒精可能通过下调 BCL-2 相关的信号通路引起 HCs 凋亡,而脂肪性肝炎可以通过 Fas 介导的凋亡途径引起 HCs 凋亡^[11,12]。HCs 的凋亡是肝损伤后最常见的现象且可促进组织炎症反应、纤维化和肝硬化。但是,引起 HCs 的凋亡的因素也可促进其代偿性再生,所以抑制肝细胞凋亡并促进其再生是防治 LF 的一个可行地治疗策略。

1.2 HSCs 在 LF 的发展中处于中心地位

HSCs 正常存在于肝内 Disse 间隙且处于静止状态,是肝内最主要的成纤维细胞。各种致纤维化的因素都可直接或间接引起 HSCs 的激活转化,所以 HSCs 是 LF 启动和发展的中心^[13]。而 HSCs 的活化又可分为两个阶段,即启动和维持阶段。

1.2.1 HSCs 的激活

在启动阶段,HSCs 可接受肝内因损伤而产生的可溶性物质的刺激,如 ROS、凋亡小体、脂多糖以及邻近细胞所分泌的炎症细胞因子^[14,15]。这些邻近细胞,如 HCs、KCs 及肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells,LSECs),在受到损伤刺激后可以产生 TGF- β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)- α 、血小板源生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)以及 IL-6^[16,17]。而后,受到刺激的 HSCs 通过一系列细胞内信号通路从静止转为激活状态,进而在持续的刺激因素作用下进入维持阶段。

维持阶段中激活状态的 HSCs 可大量分泌 ECM、MMPs、TIMPs、趋化因子、生长因子及转化因子,且还可表达 α -SMA 以作为激活状态的标志,所以是 LF 中的关键细胞。其中,ECM 主要为 I 型和 III 型 Col,而它们反过来又可以通过释放额外的基质结合性生长因子来刺激 HSCs 迁移和收缩,从而形成一个正反馈的环路^[18];激活的 HSCs 是降解 ECM 的 MMP-2、3、7、9、10、11 和 13 的主要来源,但同时也分泌 TIMP-1 和 2 来抑制 MMPs 从而导致细胞外胶原的沉积与排列的紊乱及 HSCs 的扩增^[19,20];而趋化因子主要有单核细胞趋化肽、趋化因子 C-C 基序配体、调节活化的正常 T 细胞表达和分泌因子以及 C-C 趋化因子受体,它们都可以吸引炎症细胞来进一步加剧肝脏的炎症反应^[21,22];另外,HSCs 所分泌的 PDGF 和 TGF- β 不仅可以以自分泌或旁分泌的作用形式作用在 HSCs 及其他细胞的受体上来进一步增强细胞的增殖、迁移和转化,还可以使激活的 HSCs 释放 ROS 而反过来继续激活 HSCs 以促进纤维化的发展^[23-25]。

除了分泌各种致纤维化介质外,持续激活的 HSCs 也可以转化为 MFBs,并以表达的 α -SMA 为典型标志。而 MFBs 具有收缩性可以增加门管区的阻力,从而阻碍血液和营养进入肝脏来抑制肝细胞的再生和促进 LF 的发展^[26]。

1.2.2 激活的 HSCs 的转归

传统的观点认为 LF 以及肝硬化是不可转归的,然而最近的研究发现即使很晚期的纤维化也是能够被逆转的^[27]。当导致肝损伤的因素被终止或消除时,肝能够进行自身的恢复,而这其中就包含了激活的 HSCs 的减少^[28]。在致纤维化因素对激活的 HSCs 的刺激减弱或消失的情况下,激活的 HSCs 可以转向凋亡、衰老或静止^[29]。

目前很多研究结果证明,激活的 HSCs 可以在 LF 的恢复过程中转向凋亡^[30]。它们对 CD95 配体(CD95 ligand,CD95L)以及 TNF 相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand,TRAIL)介导的凋亡敏感,并且 NKs 可以通过 TRAIL 和产生的干扰素(interferon,IFN)- γ 来诱导它们的凋亡^[31,32]。而且,它们也能随着自身 CD95L、Bcl-2 以及 p53 表达的增加而启动自身凋亡^[33]。研究表明,通过抑制核因子- κ B(nuclear factor- κ B,NF- κ B)可以直接刺激 HSCs 的凋亡^[34],同样抑制 TGF- β 和 PDGF 信号通路也可以抑制 HSCs 的激活从而引起它们的凋亡^[35],而这些也都有望成为治疗 LF 的新的靶点。此外,还有许多细胞因子也可以诱导 HSCs 的凋亡,如胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1,IGF-1)和 IFN- α ^[36,37]。

研究发现,肿瘤抑制蛋白 p53 可以在 LF 的恢复过程中驱使激活的 HSCs 转向衰老状态^[38],并瘦素能够通过部分抑制过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated nuclear receptors,PPAR)- γ 来激活 HSCs 而远离衰老状态^[39]。而衰老的 HSCs 可以显示出细胞周期退出、ECM 分泌减少、ECM 降解酶分泌增多以及免疫监视能力的增强,同时 NKs 会优先清除掉衰老的 HSCs,而这些都促进了纤维化的恢复。另外,LSECs 可通过血管内皮生长因子诱导的一氧化氮的产生,来促进激活的 HSCs 逆转回静止的 HSCs^[40]。虽然激活的 HSCs 可以在体外通过诱导而逆转为静止态,但这一现象还没有在在在水平上得到有效验证。

所以,防止 LF 一方面可以通过抑制 HSCs 的激活来防止纤维化的进一步恶化,另一方面可以通过促进激活的 HSCs 的凋亡、衰老和转归来逆转纤维化。

综上,导致 LF 的细胞并非是单一的某种细胞,而是许多种细胞组成的一个群体。它们以激活的 HSCs 为中心,以自分泌和旁分泌的形式相互联系,共同辅助和促进 LF。所以,寻找可以同时影响到多种细胞的全面的方法,才能更为有效地以细胞为靶点治疗 LF。

2 细胞因子参与对 LF 的调控

细胞因子的存在使得各种细胞可以通过它们这座“桥梁”来互相“交流”和影响,从而使得肝脏内形成一个整体网状的复杂环境。

2.1 TGF- β 促进 LF 的发展

TGF- β 家族在肝中主要由 HCs、HSCs、MFBs、KCs 以及 LSECs 合成分泌,是最关键的刺激 HSCs 的激活和增殖从而导致纤维化的物质^[41,42],所以就如同 HSCs 在细胞中的地位一样,

其在各种细胞因子中占据着关键的中心地位。而在 TGF- β 家族中, TGF- β 1 在启动和维持 LF 上扮演着重要的角色。它的含量从纤维化一开始便逐步升高, 直至到纤维化的末期即肝硬化期达到最高峰。多种研究显示, TGF- β 1 通过多方面促进纤维化。在初期, 它可以通过 TGF- β 受体-Smads 通路来激活 HSCs, 从而促进 HSCs 增殖和转化并大量合成分泌 TGF- β 1 和 ECM。其中, Smads2 和 3 可以激活该通路, 而 Smads7 却起相反的作用^[43,44], 所以抑制 Smads2 和 3 或促进 Smads7 的激活可能会对抑制 HSCs 的激活从而治疗 LF。激活的 HSCs 分泌的 TGF- β 1 又通过自分泌和旁分泌的形式继续激活自身和周围细胞, 从而形成一个正反馈的环路来促进纤维化^[45]。TGF- β 1 可能通过激活 Ras、Raf-1、MEK 以及 MAPK p42 和 p44 来促进 HSCs 分泌胶原^[46]。同时, TGF- β 1 也能通过抑制 MMPs 和促进 TIMPs 的表达来抑制胶原的降解及 HSCs 的凋亡, 从而使得胶原纤维的过度沉积^[43,47]。而且, TGF- β 1 还可能是部分通过减少了 CD95L 的表达或增加了 p38 丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 NF- κ B 的活性来抑制 HSCs 的凋亡^[48]。另外, TGF- β 1 可抑制 HCs 的 G1 期 DNA 合成并促进其凋亡^[49], 从而抑制肝的再生和纤维化的恢复。而且, 它还可以通过磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase, PKB)和 Ras/MAPK 通路诱导 HCs 的 EMT 来促进胶原生成和纤维化的发展^[50]。可见, TGF- β 1 在 LF 中一方面主要地刺激 HSCs 活化增殖从而抑制其凋亡, 另一方面又抑制 HCs 的增殖并促进其 EMT, 从而在 LF 的发展中扮演着重要的促纤维化角色。所以, 抑制 TGF- β 1 的产生及其对肝内细胞的刺激作用是 LF 治疗过程中的关键。

2.2 PDGF 对 LF 的促进作用

在 LF 中, PDGF 是所有生长因子中最强的可导致 HSCs 分裂的分裂原, 主要由 KCs 和激活的 HSCs 合成分泌。随着纤维化的进展, PDGF 极其受体的表达量也在持续增加, 且其活性也逐渐增强^[51]。PDGF 与受体结合后, 可以通过一系列相关的信号通路和转录因子来激活纤维化相关的基因表达。而这些信号通路包括 PI3K/PKB、C-JunK、ERK 以及 p38 MAPK^[52,53]。而且, PDGF 可以促进 MMP-2、9 和 TIMP 的表达以及抑制胶原酶的活性, 从而抑制 ECM 的降解^[54,55]。此外, 它还可以刺激 HSCs 的 Na⁺/H⁺ 交换体, 从而增强 HSCs 的增殖和胶原的分泌, 而一种 Na⁺/H⁺ 交换体的阻断剂可以明显减弱这一效应从而有助于 LF 的恢复^[56], 而这也为治疗 LF 提供了新的靶点。HSCs 除了在 PDGF 的作用下可以加速增殖及合成分泌外, 还能在其趋化作用下向损伤部位迁移, 从而使 HSCs 在损伤部位聚集并合成 ECM^[57]。所以, PDGF 与 TGF- β 一样能够通过多种机制强烈地促进 HSC 的激活、增殖以及迁移, 从而促进 LF 的发展。因此, 在 LF 中削减和抑制 PDGF 对 HSCs 的促进作用将有效地控制 LF 的发展。

2.3 TNF- α 对 LF 的双面影响

在 LF 中, TNF- α 主要由 HSCs 和 KCs 合成分泌, 具有细胞毒性和促进炎症作用, 并且对 HSCs 具有重要而复杂的作用。

一方面, 它能够通过促进 HSCs 的激活及合成 ECM 来促进纤维化^[58]。而且, 它还能通过上调 NF- κ B、Bcl-2 和 p21 WAF1

及下调 p53 来抑制大鼠激活的 HSCs 的自发性凋亡^[59]。所以, TNF- α 的抗体可以减少非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)大鼠的肝脏坏死、炎症和纤维化^[60], 而 TNF- α 可以增加体外 HSCs 的 TIMPs 和细胞粘附分子基因的表达^[61]。另外, TNF- α 可以通过半胱天冬酶(caspase)途径来使得 HCs 凋亡, 从而加重纤维化^[62]。而且, 它还能以自分泌和旁分泌形式通过激活 NF- κ B 而激活 KCs, 从而在 NASH 模型中对纤维化起到重要促进作用^[63]。

另一方面, TNF- α 的毒性作用也可引起 MFBs 的凋亡从而抑制纤维化, 但具体机制不明^[64]。并且, 它可通过减少大鼠 HSCs 内谷胱甘肽来抑制 Col I 前体的表达^[65], 还能够通过刺激 HSCs 产生 IL-6 来促进 HCs 产生急性期反应蛋白从而抑制纤维化和炎症反应^[66]。此外, TNF- α 可能通过激活 NF- κ B 的活性来刺激 HCs 的增殖, 从而帮助纤维化的恢复^[67]。

由此可见, TNF- α 在纤维化上作用是复杂和双向的。它的作用位点广泛且机制不一, 既可以促进又可以抑制纤维化。所以, 在以 TNF- α 为靶点治疗纤维化时, 不应只从单一的路线入手来干预纤维化的发展, 而是应全面考虑 TNF- α 的作用机制来放大它对治疗纤维化正面影响同时削弱它的负面影响。只有这样, 才可能更有效地利用 TNF- α 来治疗 LF。

总结起来, 由多种细胞合成分泌的众多细胞因子在 LF 的调节中扮演着重要的角色。虽然, 整体上各种细胞因子都是以 HSCs 和 TGF- β 信号通路为中心来发挥对纤维化的影响作用, 但它们也有各自独特的作用位点和机制从而直接或间接地促进或抑制纤维化, 以此将各种细胞和纤维化的发生发展连接成一个整体。但是到目前为止, 关于细胞因子对纤维化影响的作用和机制尚有许多未明确的地方, 而这也有待于研究者的继续研究。

3 ECM 影响 LF 的发展

虽然 LF 的特征是 ECM 的产生和降解失衡导致的过度沉积和结构紊乱, 但是 ECM 在产生过程中同样可以像细胞一样对 LF 起到影响。

3.1 胶原对 LF 的影响

胶原蛋白是组成纤维结缔组织的重要组成成分, 在肝中主要以 Col I、III 和 IV 的形式存在。在纤维化的肝脏中, Col I、III 和 IV 主要由激活的 HSCs 分泌, 且相对于正常组织表达大大增加伴随分布形式的改变^[68]。大量沉积及紊乱的 Col 在肝内形成网状的纤维隔可导致肝内循环及肝内外营养物质和代谢物质的交换的障碍, 从而抑制了肝细胞的再生并加剧其凋亡, 从而促进了 HSCs 的激活和纤维化的发展。在正常肝组织中, Disse 间隙的基膜样基质主要由 Col IV 和 VI 组成, 而在 LF 过程中逐渐被 Col I 和 III 取代。而且, 在肝窦内皮下的 Col IV 在正常的肝窦内皮下是不连续的, 但在纤维化中逐渐转为连续性从而参与肝窦毛细血管内皮化来进一步使肝内血液供应障碍加重纤维化^[69]。另外, 在体实验证明, 完整的 Col I 可以促进激活的 HSCs 的维持来保证纤维化的发展, 而降解 Col I 后可以促进肝细胞的再生和 HSCs 的凋亡, 说明促进降解 Col I 有助于 LF 的恢复^[70]。可见 Col 的产生和沉积是 LF 发展的必然结果而同时也是 LF 继续发展的促进因素, 由此而产生不断扩大的恶性

循环。所以在 LF 的发展中,应积极抑制 Col 的产生并促进已经沉积的 Col 降解,从而对 LF 起到标本兼治的效果。

3.2 MMPs 及 TIMPs 对 LF 的影响

正常肝脏中的 ECM 处于产生和降解的动态平衡状态,从而可以维持正常的肝脏功能。而其中,降解 ECM 的功能就需要 MMPs 来完成。MMPs 在正常情况下由 HCs 合成,而在纤维化中由激活的 HSCs 合成。MMPs 家族的种类繁多,不同种类的 MMPs 可以降解 ECM 中不同的成分。LF 中,合成增多的 MMPs 导致对 ECM 的分解增强,但同时 ECM 的合成也在增加,从而使 ECM 的结构紊乱。但是,有体外研究显示 MMP-9 可以促进 HSCs 的凋亡,提示 MMPs 在促进 LF 恢复中具有重要作用^[7]。而随着 LF 的进展,Col I 逐渐成为 ECM 中最主要的成分,然而可以分解其的 MMP-1 的含量却反而下降^[7]。虽然,在激活的 HSCs 中,MMP-1 的 mRNA 的表达上调,但是其蛋白的表达却并未能被检测,所以就使得 Col I 不能被及时分解而使纤维化进展。

随着 MMPs 的合成分泌,另一种由 HCs 和激活的 HSCs 产生的可以调节 MMPs 活性的物质也被分泌到 ECM 中,即 TIMPs。它们可以结合到 MMPs 上,从而抑制其降解 ECM 的活性。研究显示,激活的 HSCs 可以分泌功能性的 TIMP-1 和 2,从而抑制 ECM 中胶原的降解,进而导致 ECM 的过度沉积^[7]。此外,TIMP-1 还能够抑制 caspase-3 的活性来抑制 HSCs 的凋亡,从而保证了激活的 HSCs 的数量持续增多,进而加剧纤维化的进展^[7]。而且在体实验证明,给予动物模型 TIMPs 的抗体或通过转基因使其肝脏过表达 TIMP-1,都可以阻碍 LF 的恢复^[7]。所以,如何在纤维化中适当地增加 MMPs 并减少 TIMPs 的含量,是防止 LF 发展并促进其转归的治疗方向。

总体上,ECM 的增多虽然是 LF 的特征和发展结果,但是其在增多过程中也会反过来进一步促进纤维化的发展,从而导致恶性循环。所以针对 ECM 的增多的治疗策略也是在防治 LF 中所必需的。

4 长链非编码 RNA 影响 LF 的发展

近年来,人们发现了一类长度在 200 nt-100 kb 且不编码蛋白质的 RNA,故将其命名为长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNAs)。虽然 lncRNAs 不能编码蛋白质,但是其具有与蛋白编码基因相似特点,如组织特异性表达、染色体标志、独立的基因启动子以及可以受转录因子调控等。更重要的是,由于它们可以在各种生理或病理条件下广泛表达,并可以在转录前、转录及转录后的各种水平参与调控细胞的各种功能从而参与多种疾病的发生和发展,故已成为人们关注的焦点^[7]。而目前已经有许多 lncRNAs,被发现在肝再生以及多种肝脏疾病尤其是肝癌中发挥重要的作用,因此这些 lncRNAs 很可能被用来作为相关肝疾病有力的诊断和预后的标志甚至有效的治疗靶点^[7]。而更值得注意的是,被发现在肝癌中低表达而具有抑制其增殖作用的 MEG3,近期也被发现在小鼠纤维化肝中低表达且可以抑制体外 HSCs 增殖,从而有望成为治疗 LF 的新靶点^[7]。因此这也让我们看到了,在认识和探索 LF 的发展和治理上有关 lncRNAs 的新方向^[7]。但是更多关于 lncRNAs 和 LF 关系还知之甚少,因此若能通过更深入系统性研究,认识更多与

LF 相关的关键性 lncRNAs 以及它们在 LF 中的功能,则将会有希望找出更有效的治疗 LF 的靶点。

5 总结与展望

无论是从细胞到 ECM,还是从细胞因子到细胞内的基因,每一个因素都能在纤维化过程中参与对纤维化的影响,虽然我们是按着一定的顺序依次来讨论的,但是这些因素却是在一定时间段内同时发生着对纤维化的影响。并且,它们的并不是独立的存在于肝内,而是通过各种联系相互促进或制约,从而共同影响着对纤维化的发生和发展。过去在许多导致纤维化发展的因素和机制被发现后,研究者们认为 LF 是不可逆转的,只能发展成为最后的肝硬化。然而,随着研究的进展,研究者们又发现了许多可以抑制纤维化发展的因素和机制。从而,这更加鼓励人们对纤维化发病机制的研究。然而到目前为止,仍有许多影响纤维化的因素及机制还不为我们所知,有些具有双向作用的因素在肝内究竟具体是发挥何种作用也尚不清楚,所以我们离完全阐明 LF 的发病机制还很远。因此,继续探索 LF 发病机制对于我们更加认识 LF 并找到更有效的治疗手段具有极其深远的意义。

参考文献(References)

- [1] Asrani SK, Larson JJ, Yawn B, et al. Underestimation of liver-related mortality in the United States [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145 (2): 375-382 e371-372
- [2] Lin J, Wu JF, Zhang Q, et al. Virus-related liver cirrhosis: Molecular basis and therapeutic options[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(21): 6457-6469
- [3] Okazaki I, Noro T, Tsutsui N, et al. Fibrogenesis and Carcinogenesis in Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): Involvement of Matrix Metalloproteinases (MMPs) and Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMPs)[J]. *Cancers (Basel)*, 2014, 6(3): 1220-1255
- [4] Lachenmeier DW, Monakhova YB, Rehm J. Influence of unrecorded alcohol consumption on liver cirrhosis mortality [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7217-7222
- [5] Elpek GO. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7260-7276
- [6] Huang X, Wang X, Lv Y, et al. Protection effect of kallistatin on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats via antioxidative stress[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88498
- [7] Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(23): 7312-7324
- [8] Norris CA, He M, Kang LI, et al. Synthesis of IL-6 by hepatocytes is a normal response to common hepatic stimuli [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4): e96053
- [9] Erturk A, Cure E, Ozkurt Z, et al. Serum fibronectin levels in acute and chronic viral hepatitis patients [J]. *Malays J Med Sci*, 2014, 21 (1): 29-36
- [10] Schattenberg JM, Nagel M, Kim YO, et al. Increased hepatic fibrosis and JNK2-dependent liver injury in mice exhibiting hepatocyte-specific deletion of cFLIP [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 303(4): G498-506
- [11] Li CP, Li JH, He SY, et al. Roles of Fas/FasL, Bcl-2/Bax, and

- Caspase-8 in rat nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(2): 3991-3999
- [12] Liu N, Jiao T, Huang Y, et al. Hepatitis B virus regulates apoptosis and tumorigenesis through the microRNA-15a-Smad7-transforming growth factor beta pathway[J]. *J Virol*, 2015, 89(5): 2739-2749
- [13] Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, et al. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis [J]. *Hepatology*, 2012, 56(1): 300-310
- [14] Lee TF, Lin YL, Huang YT. Kaerophyllin inhibits hepatic stellate cell activation by apoptotic bodies from hepatocytes [J]. *Liver Int*, 2011, 31(5): 618-629
- [15] Wang F, Liu S, Du T, et al. NF-kappaB inhibition alleviates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via suppression of activated hepatic stellate cells[J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(1): 95-99
- [16] Xu J, Liu X, Koyama Y, et al. The types of hepatic myofibroblasts contributing to liver fibrosis of different etiologies [J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: e167
- [17] Murata S, Maruyama T, Nowatari T, et al. Signal transduction of platelet-induced liver regeneration and decrease of liver fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 5412-5425
- [18] Gabele E, Brenner DA, Rippe RA. Liver fibrosis: signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell [J]. *Front Biosci*, 2003, 8: d69-77
- [19] Calabro SR, Maczurek AE, Morgan AJ, et al. Hepatocyte produced matrix metalloproteinases are regulated by CD147 in liver fibrogenesis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e90571
- [20] Li Y, Luo Y, Zhang X, et al. Combined taurine, epigallocatechin gallate and genistein therapy reduces HSC-T6 cell proliferation and modulates the expression of fibrogenic factors[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(10): 20543-20554
- [21] Chen HJ, Liang TM, Lee IJ, et al. Scutellariae radix suppresses LPS-induced liver endothelial cell activation and inhibits hepatic stellate cell migration[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3): 835-842
- [22] Chu PS, Nakamoto N, Ebinuma H, et al. C-C motif chemokine receptor 9 positive macrophages activate hepatic stellate cells and promote liver fibrosis in mice[J]. *Hepatology*, 2013, 58(1): 337-350
- [23] Zhang F, Ni C, Kong D, et al. Ligustrazine attenuates oxidative stress-induced activation of hepatic stellate cells by interrupting platelet-derived growth factor-beta receptor-mediated ERK and p38 pathways[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265(1): 51-60
- [24] Moreno-Alvarez P, Sosa-Garrocho M, Briones-Orta MA, et al. Angiotensin II increases mRNA levels of all TGF-beta isoforms in quiescent and activated rat hepatic stellate cells [J]. *Cell Biol Int*, 2010, 34(10): 969-978
- [25] Ghatak S, Biswas A, Dhali GK, et al. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 251(1): 59-69
- [26] Yang YY, Tsai TH, Huang YT, et al. Hepatic endothelin-1 and endocannabinoids-dependent effects of hyperleptinemia in nonalcoholic steatohepatitis-cirrhotic rats [J]. *Hepatology*, 2012, 55(5): 1540-1550
- [27] Atta HM. Reversibility and heritability of liver fibrosis: Implications for research and therapy [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(17): 5138-5148
- [28] Wu BR, Zheng YL, Sang XL, et al. Role of the IGF-1/PI3K pathway and the molecular mechanism of Fuzhenghuayu therapy in a spontaneous recovery rat model of liver fibrosis[J]. *Chinese Journal of Hepatology website*, 2013, 21(9): 674-678
- [29] Liu X, Xu J, Brenner DA, et al. Reversibility of Liver Fibrosis and Inactivation of Fibrogenic Myofibroblasts [J]. *Curr Pathobiol Rep*, 2013, 1(3): 209-214
- [30] Zhang H, Wu P, Chen F, et al. SILAC-based quantitative proteomic analysis of secretome between activated and reverted hepatic stellate cells[J]. *Proteomics*, 2014, 14(17-18): 1977-1986
- [31] Muhanna N, Abu Tair L, Doron S, et al. Amelioration of hepatic fibrosis by NK cell activation[J]. *Gut*, 2011, 60(1): 90-98
- [32] Glassner A, Eisenhardt M, Kramer B, et al. NK cells from HCV-infected patients effectively induce apoptosis of activated primary human hepatic stellate cells in a TRAIL-, FasL- and NKG2D-dependent manner[J]. *Lab Invest*, 2012, 92(7): 967-977
- [33] Pan TL, Wang PW, Leu YL, et al. Inhibitory effects of Scutellaria baicalensis extract on hepatic stellate cells through inducing G2/M cell cycle arrest and activating ERK-dependent apoptosis via Bax and caspase pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3): 829-837
- [34] Kim BH, Yoon JH, Yang JI, et al. Guggulsterone attenuates activation and survival of hepatic stellate cell by inhibiting nuclear factor kappa B activation and inducing apoptosis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(12): 1859-1868
- [35] Tao YY, Wang QL, Shen L, et al. Salvianolic acid B inhibits hepatic stellate cell activation through transforming growth factor beta-1 signal transduction pathway in vivo and in vitro [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(11): 1284-1296
- [36] Saile B, DiRocco P, Dudas J, et al. IGF-I induces DNA synthesis and apoptosis in rat liver hepatic stellate cells (HSC) but DNA synthesis and proliferation in rat liver myofibroblasts (rMF)[J]. *Lab Invest*, 2004, 84(8): 1037-1049
- [37] Hou X, Yu F, Man S, et al. Polyinosinic-polycytidylic acid attenuates hepatic fibrosis in C57BL/6 mice with Schistosoma japonicum infection[J]. *Acta Trop*, 2012, 121(2): 99-104
- [38] Ahsan MK, Mehal WZ. Activation of adenosine receptor A2A increases HSC proliferation and inhibits death and senescence by down-regulation of p53 and Rb[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: e69
- [39] Zhou Q, Guan W, Qiao H, et al. GATA binding protein 2 mediates leptin inhibition of PPARgamma expression in hepatic stellate cells and contributes to hepatic stellate cell activation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(12 Pt A): 2367-2377
- [40] Xie G, Wang X, Wang L, et al. Role of differentiation of liver sinusoidal endothelial cells in progression and regression of hepatic fibrosis in rats[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 918-927
- [41] Xiao X, Gang Y, Gu Y, et al. Osteopontin contributes to TGF-beta1 mediated hepatic stellate cell activation[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(11): 2883-2891
- [42] Ding ZY, Jin GN, Liang HF, et al. Transforming growth factor beta induces expression of connective tissue growth factor in hepatic progenitor cells through Smad independent signaling [J]. *Cell Signal*, 2013, 25(10): 1981-1992

- [43] Peng J, Li X, Feng Q, et al. Anti-fibrotic effect of Cordyceps sinensis polysaccharide: Inhibiting HSC activation, TGF-beta1/Smad signalling, MMPs and TIMPs [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2013, 238(6): 668-677
- [44] Bian EB, Huang C, Wang H, et al. Repression of Smad7 mediated by DNMT1 determines hepatic stellate cell activation and liver fibrosis in rats[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 224(2): 175-185
- [45] Ruehl M, Erben U, Kim K, et al. Extracts of *Lindera obtusiloba* induce antifibrotic effects in hepatic stellate cells via suppression of a TGF-beta-mediated profibrotic gene expression pattern [J]. *J Nutr Biochem*, 2009, 20(8): 597-606
- [46] Song YF, Lu ZG, Xu LM. Salvianolic acid B inhibits ERK signal transduction pathway activated by transforming growth factor-beta1 in rat hepatic stellate cells[J]. *Journal of Chinese integrative medicine*, 2012, 10(4): 454-461
- [47] Qian J, Niu M, Zhai X, et al. beta-Catenin pathway is required for TGF-beta1 inhibition of PPARgamma expression in cultured hepatic stellate cells [J]. *Pharmacol Res*, 2012, 66(3): 219-225
- [48] Szuster-Ciesielska A, Mizerska-Dudka M, Daniluk J, et al. Butein inhibits ethanol-induced activation of liver stellate cells through TGF-beta, NFkappaB, p38, and JNK signaling pathways and inhibition of oxidative stress[J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48(2): 222-237
- [49] Enami Y, Kato H, Murakami M, et al. Anti-transforming growth factor-beta1 antibody transiently enhances DNA synthesis during liver regeneration after partial hepatectomy in rats [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2001, 8(3): 250-258
- [50] Park JH, Yoon J. Schizandrin inhibits fibrosis and epithelial-mesenchymal transition in transforming growth factor-beta1-stimulated AML12 cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25 (2): 276-284
- [51] Hayes BJ, Riehle KJ, Shimizu-Albergine M, et al. Activation of platelet-derived growth factor receptor alpha contributes to liver fibrosis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92925
- [52] Foo NP, Lin SH, Lee YH, et al. alpha-Lipoic acid inhibits liver fibrosis through the attenuation of ROS-triggered signaling in hepatic stellate cells activated by PDGF and TGF-beta [J]. *Toxicology*, 2011, 282(1-2): 39-46
- [53] Ogawa S, Ochi T, Shimada H, et al. Anti-PDGF-B monoclonal antibody reduces liver fibrosis development [J]. *Hepatol Res*, 2010, 40(11): 1128-1141
- [54] Martin IV, Borkham-Kamphorst E, Zok S, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF)-C neutralization reveals differential roles of PDGF receptors in liver and kidney fibrosis [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(1): 107-117
- [55] Borkham-Kamphorst E, Alexi P, Tihaa L, et al. Platelet-derived growth factor-D modulates extracellular matrix homeostasis and remodeling through TIMP-1 induction and attenuation of MMP-2 and MMP-9 gelatinase activities [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(3): 307-313
- [56] Di Sario A, Bendia E, Taffetani S, et al. Selective Na⁺/H⁺ exchange inhibition by cariporide reduces liver fibrosis in the rat [J]. *Hepatology*, 2003, 37(2): 256-266
- [57] Kuo JJ, Wang CY, Lee TF, et al. *Paeoniae radix* reduces PDGF-stimulated hepatic stellate cell migration[J]. *Planta Med*, 2012, 78(4): 341-348
- [58] Klironomos S, Notas G, Sfakianaki O, et al. Octreotide modulates the effects on fibrosis of TNF-alpha, TGF-beta and PDGF in activated rat hepatic stellate cells[J]. *Regul Pept*, 2014, 188: 5-12
- [59] Saile B, Matthes N, El Armouche H, et al. The bcl, NFkappaB and p53/p21WAF1 systems are involved in spontaneous apoptosis and in the anti-apoptotic effect of TGF-beta or TNF-alpha on activated hepatic stellate cells[J]. *Eur J Cell Biol*, 2001, 80(8): 554-561
- [60] Koca SS, Bahcecioglu IH, Poyrazoglu OK, et al. The treatment with antibody of TNF-alpha reduces the inflammation, necrosis and fibrosis in the non-alcoholic steatohepatitis induced by methionine- and choline-deficient diet[J]. *Inflammation*, 2008, 31(2): 91-98
- [61] Osawa Y, Hoshi M, Yasuda I, et al. Tumor necrosis factor-alpha promotes cholestasis-induced liver fibrosis in the mouse through tissue inhibitor of metalloproteinase-1 production in hepatic stellate cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65251
- [62] Fan JH, Feng GG, Huang L, et al. Naofen promotes TNF-alpha-mediated apoptosis of hepatocytes by activating caspase-3 in lipopolysaccharide-treated rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20 (17): 4963-4971
- [63] Tomita K, Tamiya G, Ando S, et al. Tumour necrosis factor alpha signalling through activation of Kupffer cells plays an essential role in liver fibrosis of non-alcoholic steatohepatitis in mice[J]. *Gut*, 2006, 55 (3): 415-424
- [64] Saile B, Matthes N, Neubauer K, et al. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells differ in CD95-mediated apoptosis and response to TNF-alpha [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283 (2): G435-444
- [65] Varela-Rey M, Fontan-Gabas L, Blanco P, et al. Glutathione depletion is involved in the inhibition of procollagen alpha1(I) mRNA levels caused by TNF-alpha on hepatic stellate cells [J]. *Cytokine*, 2007, 37(3): 212-217
- [66] Wang TM, Hsieh SC, Chen JW, et al. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid reduce C-reactive protein expression and STAT3 activation in IL-6-treated HepG2 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 377(1-2): 97-106
- [67] Tacke F, Luedde T, Trautwein C. Inflammatory pathways in liver homeostasis and liver injury [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2009, 36 (1): 4-12
- [68] Sekiya Y, Ogawa T, Yoshizato K, et al. Suppression of hepatic stellate cell activation by microRNA-29b [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 412(1): 74-79
- [69] Chen W, Rock JB, Yearsley MM, et al. Collagen immunostains can distinguish capsular fibrous tissue from septal fibrosis and may help stage liver fibrosis [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014, 22(10): 735-740
- [70] Issa R, Zhou X, Trim N, et al. Mutation in collagen-1 that confers resistance to the action of collagenase results in failure of recovery from CCl4-induced liver fibrosis, persistence of activated hepatic stellate cells, and diminished hepatocyte regeneration [J]. *FASEB J*, 2003, 17(1): 47-49

- [8] CongLiu, Meng-TingLiu, PengLi, et al. Efficacy Evaluation for the Treatment of Subcapital Femoral Neck Fracture in Young Adults by Capsulotomy Reduction and Closed Reduction[J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(4): 483-488
- [9] Ünal MB, Cansü E, Parmaks ızo ğ lu F, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with free vascularized fibular grafting: results of 7.6-year follow-up [J]. Acta Orthopaedica Et Traumatologica Turcica, 2016, 50(3): 185-196
- [10] Chen D, Chen X, Bai Y, et al. Mechanism of Tongluo Shenggu Capsules on Glucocorticoid-induced Osteonecrosis of Femoral Head in Rabbits [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2016, 15(8): 25-78
- [11] Ning Y, Wei T, Lei S, et al. Neural stem cell transplantation in a double-layer collagen membrane with unequal pore sizes for spinal cord injury repair [J]. Neural Regeneration Research, 2014, 9(10): 1014-1019
- [12] Wojciech P, Philip K, Beckmann N A, et al. Core Decompression and Autologous Bone Marrow Concentrate for Treatment of Femoral Head Osteonecrosis: A Randomized Prospective Study[J]. Orthopedic Reviews, 2016, 8(1): 47-52
- [13] Yang Z, Nan W, Yang L F, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation combined with core decompression and bone grafting in the repair of osteonecrosis of femoral head [J]. Int J Clin Exp Med, 2015(6): 883-890
- [14] Yan Y, Ma T, Kai G, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes adult neurogenesis in the brains of Alzheimer's disease mice [J]. Neural Regeneration Research, 2014, 9(8): 798-805
- [15] Ye-ming, GUAN, Hai-li, et al. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation suppresses inflammatory responses and neuronal apoptosis during early stage of focal cerebral ischemia in rabbits [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2014, 35(5): 585-591
- [16] Yang J H, Kim J H, Lim D S, et al. Effect of combined sex hormone replacement on bone/cartilage turnover in a murine model of osteoarthritis[J]. Clinics in orthopedic surgery, 2012, 4(3): 234-241
- [17] Wojciech P, Philip K, Beckmann N A, et al. Core Decompression and Autologous Bone Marrow Concentrate for Treatment of Femoral Head Osteonecrosis: A Randomized Prospective Study[J]. Orthopedic Reviews, 2016, 8(1): 256-266
- [18] Wang Z, Zhou X, Liang D, et al. Clinical Randomized Controlled Trial on Needle- Knife and Marrow Core Decompression Therapy for Early and Middle Avascular Necrosis of Femoral Head [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2016, 77(52): 25-54
- [19] Shi Y, Zhou S, He X, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in chemotherapy-sensitive lymphoblastic lymphoma: treatment outcome and prognostic factor analysis [J]. Chin J Cancer Res, 2015, 27(1): 66-73
- [20] Dong Y, Yang L, Lin Y, et al. Transplantation of neurotrophin-3-transfected bone marrow mesenchymal stem cells for the repair of spinal cord injury [J]. Neural Regeneration Research, 2014, 9(16): 1520-1524

(上接第 2785 页)

- [71] Zhou X, Murphy FR, Gehdu N, et al. Engagement of alphavbeta3 integrin regulates proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells [J]. J Biol Chem, 2004, 279(23): 23996-24006
- [72] Xu X, Shi F, Huang W, et al. Metallothionein gene transfection reverses the phenotype of activated human hepatic stellate cells [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2013, 346(1): 48-53
- [73] Jiang YF, Sun HL, Zhang JJ, et al. Effect of shRNA-mediated silencing of CTGF and TIMP-1 on mRNA expression of CTGF, TIMP-1, and PC I and secretion of extracellular matrix in rat hepatic stellate cells [J]. Chinese Journal of Hepatology ISSN, 2012, 20(8): 576-580
- [74] Murphy FR, Issa R, Zhou X, et al. Inhibition of apoptosis of activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis [J]. J Biol Chem, 2002, 277(13): 11069-11076
- [75] Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis[J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2012, 5(Suppl 1): S26
- [76] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904-914
- [77] Du Y, Kong G, You X, et al. Elevation of highly up-regulated in liver cancer (HULC) by hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell proliferation via down-regulating p18[J]. J Biol Chem, 2012, 287(31): 26302-26311
- [78] He Y, Wu YT, Huang C, et al. Inhibitory effects of long noncoding RNA MEG3 on hepatic stellate cells activation and liver fibrogenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(11): 2204-2215