

炎症细胞在心肌纤维化中的作用

姚桐青, 金贤 综述, 沈成兴 审校

(上海交通大学医学院附属新华医院心血管内科, 上海市 200092)

[关键词] 炎症细胞; 自噬; 心肌纤维化; 细胞因子

[摘要] 心肌纤维化与心力衰竭、心律失常以及心源性猝死等密切相关。预防和逆转心肌纤维化是临床研究的热点之一。心肌纤维化的发病机制还未完全明确, 目前认为炎症细胞与心肌纤维化的发生发展有着重要的联系, 而自噬作为炎症细胞功能调控的重要因素影响心肌纤维化的转归。本文就炎症细胞及其自噬在心肌纤维化作用的最新研究进展作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Role of Inflammatory Cells in Myocardial Fibrosis

YAO Tong-Qing, JIN Xian, and SHEN Cheng-Xing

(Department of Cardiology, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China)

[KEY WORDS] Inflammatory Cells; Autophagy; Myocardial Fibrosis; Cytokines

[ABSTRACT] Myocardial fibrosis is closely related to heart failure, arrhythmias, sudden cardiac death. Prevention and reversal of cardiac fibrosis is one of the key points in clinical research. Pathogenesis of myocardial fibrosis is not fully understood. Currently, it is believed that the development of myocardial fibrosis has close links with inflammatory cells, and autophagy as an important factor in the regulation of inflammatory cell function influences the outcome of myocardial fibrosis. This review elaborates the latest progress of research of inflammatory cells and autophagy of inflammatory cells in myocardial fibrosis.

心肌纤维化是以心肌细胞外基质蛋白网状聚集为特征, 多发生在左心室, 影响心肌的收缩和舒张功能。因为成人心肌不可再生, 所以大部分的心肌纤维化存在于急性心肌疾病中。除此之外, 心脏前后负荷过重、酒精、蒽环类药物等的毒副作用以及高血压、糖尿病、肥胖等导致的代谢紊乱都可致心肌纤维化的发生^[1]。而炎症细胞自噬作为影响炎症细胞功能的重要因素也与心肌纤维化密不可分。

自噬 (autophagy, AP) 是真核生物保守进化中控制细胞代谢和某些细胞器更新的一个重要功能。在细胞受到各种理化因素伤害时, 自噬对细胞的损伤起一种保护作用, 但过度的自噬对细胞有害。近年来的研究发现, 自噬与心肌肥厚、心室重构、心肌

缺血再灌注损伤等有关^[2]。在这些心血管病理生理过程中除心肌细胞自噬外, 炎症细胞的自噬也起着重要的作用。本文主要阐述炎症细胞与心肌纤维化的关系以及目前的研究热点, 炎症细胞自噬在心肌纤维化的最新研究进展。

1 炎症细胞与心肌纤维化

1.1 单核巨噬细胞系统与心肌纤维化

单核巨噬细胞不但促进纤维化反应的发生, 而且可能参与纤维化的转归。单核巨噬细胞的表型和功能多样, 这使得它们有着促纤维化和抗纤维化的双重作用, 然而其具体的作用取决于参与反应的细胞亚型以及微环境因素。单核巨噬细胞的亚群

[收稿日期] 2015-02-14

[修回日期] 2015-03-24

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81170193)

[作者简介] 姚桐青, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向为冠心病的基础和临床, E-mail 为 yongqing@hotmail.com。金贤, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为冠心病的基础和临床, E-mail 为 jinxianian@126.com。沈成兴, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的基础和临床, E-mail 为 shencx@sju.edu.cn。

可能通过分泌细胞因子和生长因子调节纤维化,以及分泌蛋白酶来调节基质的重塑。而且,单核巨噬细胞可能通过吞噬清除坏死细胞来参与纤维化的发展,或通过清除凋亡成纤维细胞和细胞基质碎片来减少纤维化的发生。有研究发现在肝纤维化的模型中 Ly6Clo 巨噬细胞能分泌大量的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)^[3],这可能在减少纤维化反应中起着重要的作用。谭玉林等^[4]研究证明高糖可使巨噬细胞 CD36 表达上调,从而促进动脉粥样硬化的发生发展。在受损心肌中可见大量的巨噬细胞募集,但巨噬细胞调节纤维化的具体功能仍然不明确。

髓源性细胞可以分化为成纤维细胞,并在小鼠心肌梗死的重塑中起着重要的作用,CD14⁺ 单核细胞可能有分化为成纤维细胞的能力。进一步研究发现 1 型辅助性 T 细胞(helper T cell 1, Th1) 因子抑制原始细胞向成纤维细胞分化,而 Th2 细胞因子促进原始细胞向成纤维细胞分化,且生长因子也对纤维化起着调控作用^[5]。心肌梗死时梗死区域有大量的细胞因子,因此细胞因子及其受体可能参与单核细胞在心肌的募集以及单核细胞向成纤维细胞分化。我们在髓源性细胞方面也进行了深入的研究,结果显示髓源性细胞可以被动员到血管炎症部位,且被诱导分化后吞噬氧化型低密度脂蛋白形成泡沫细胞^[6]。我们据此推测髓源性细胞参与了心肌纤维化的发生发展。

在小鼠心肌缺血的模型中,趋化因子导致的巨噬细胞浸润是心肌纤维化的重要因素。而且在小鼠的高血压模型中发现,血管紧张素 II 以及盐皮质激素可能通过激活巨噬细胞来促进纤维化反应^[7]。

在不同的微环境中,巨噬细胞发挥着不同的作用。心肌梗死时,单核巨噬细胞同时具有促炎和修复双重作用。巨噬细胞根据激活后功能和表型的不同分为经典激活型(M1 型)和替代激活型(M2 型)两种激活形式。M1 型巨噬细胞的激活主要依赖于脂多糖、 γ 干扰素、C-C 趋化因子,并分泌促炎细胞因子,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1(interleukin-1, IL-1)、IL-12、IL-23、 γ 干扰素及活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)。这些促炎细胞因子具有吞噬、杀菌、抗原呈递及降解细胞外基质等功能。此外 M1 型巨噬细胞分泌的 IL-1 β 可以诱导 MMP-9 的表达,并促进转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 刺激成纤维细胞的增殖^[7]。M2 型巨噬细胞的激活主要依赖于糖皮质激素或 IL-4、IL-13,并高

表达抗炎因子 IL-4、IL-10、血红素氧合酶 1、CD163 及各类清道夫受体。M2 型巨噬细胞清除坏死产物功能强大,发挥重要的组织修复、免疫耐受和炎症抑制作用,具有促进细胞外基质重建、细胞增殖、血管新生等功能^[8]。在心肌缺血早期,心肌以 M1 型巨噬细胞募集为主,从而加速心肌的凋亡;而在心肌缺血中晚期,心肌以 M2 型巨噬细胞募集为主,参与心肌纤维化的发生^[9]。

1.2 肥大细胞与心肌纤维化

心肌梗死患者梗死的心肌、心肌病患者肿胀缺血的心肌以及前负荷超负荷、后负荷超负荷的心肌中发现有肥大细胞。有研究显示干细胞因子可能是肥大细胞浸润的始动因素,并促进肥大细胞的分化成熟^[1]。而心肌纤维化与肥大细胞浸润有关。

肥大细胞分泌大量的与纤维化有关的介质,包括组胺、肥大细胞特异性的蛋白酶、类胰蛋白酶、糜蛋白酶以及细胞因子和生长因子。来源于肥大细胞的组胺能促进纤维化的发生。在组胺缺失的啮齿类动物模型中,肥大细胞在组织纤维化和细胞外基质重构中起着重要的作用^[10]。抑制肥大细胞特异性的分泌物糜蛋白酶能减少心肌纤维化的发生。早在十几年前就已有研究发现糜蛋白酶通过产生血管紧张素 II 或通过激活 TGF- β 诱导的依赖 Smad 的通路来增强纤维化。类胰蛋白酶大部分是由肥大细胞分泌,是促进纤维化发生的介质,能促进胶原蛋白 I 的合成^[11]。在心脏中,类胰蛋白酶通过激活细胞外信号调节激酶/丝裂素活化蛋白激酶信号通路和激活蛋白激酶活化受体 2 来促进纤维化的发生^[11]。

肥大细胞颗粒中包含有大量的 TNF- α 、TGF- β 、IL-4、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)以及成纤维细胞生长因子。有研究发现在压力负荷过重的心房肌中浸润的肥大细胞通过表达 PDGF-A 参与心房纤维化和心房颤动的发生发展^[12]。然而,单核巨噬细胞也能分泌这些介质,因此,肥大细胞促进纤维化的具体作用机制还需进一步研究证实。

1.3 淋巴细胞与心肌纤维化

CD4⁺ T 淋巴细胞与纤维化有关,Th2 细胞分化与促纤维化的细胞因子 IL-4、IL-13 的显著升高有关,而且 Th2 细胞因子可以使巨噬细胞向 M2 型转化,这进一步增强纤维化反应^[1]。Th2 细胞能促进肝脏和肺的纤维化,在小鼠的心肌缺血模型中也发现心脏纤维化时 Th2 细胞、IL-4 以及 IL-13 增加^[13]。

Cieslik 等^[14]发现 Th2 细胞的分泌因子 IL-4 和 IL-13 与老年心肌纤维化有关,但还没有发现心脏纤维化与 Th2 有直接的相关性。

其他亚群的 T 细胞可能也与心脏的纤维化有关。在自身免疫性心肌炎的模型中,Th17 细胞是心肌纤维化反应重要的因素^[15]。在高血压心脏病的模型中^[16]以及血管紧张素诱导的心肌病^[17]和心肌梗死模型中^[18],发现调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)能减少心肌纤维化的发生;但 Treg 减少纤维化的作用机理目前还不清楚。

2 炎症细胞通过自噬影响心肌纤维化

在心肌纤维化的研究中,心肌细胞的自噬起着重要的作用,炎症细胞自噬在心血管领域的作用也越来越受到人们的关注。

自噬是真核生物保守进化中控制细胞代谢的一个过程,它通过膜包裹部分细胞质、待降解蛋白和细胞器,形成双层膜液泡的自噬体,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,从而降解包裹的物质^[19]。根据生理学功能和代谢物质的不同,自噬可分为分子伴侣介导的自噬、微自噬、巨自噬^[19]。自噬作为一种新的细胞程序性死亡途径成为近几年来研究的热门。

炎症细胞自噬时可以改变炎症细胞的功能状态从而使炎症细胞的炎症因子释放发生改变^[20]。自噬蛋白 5 (autophagy protein 5, Atg5) 为自噬形成不可缺少的蛋白, Atg5 单倍体不足 (Atg5 haploinsufficiency) 能减轻自噬但明显增加血管紧张素 II 诱导的心脏炎症反应^[21]。在 7-酮基胆固醇诱导的动脉粥样硬化的模型中,巨噬细胞的自噬增加,敲除巨噬细胞自噬基因 Atg5 后能增加巨噬细胞的凋亡,增强还原型辅酶 II 氧化酶介导的氧化应激反应,增加血小板坏死以及降低巨噬细胞的吞噬清除能力^[22]。因此,在心肌梗死时增强巨噬细胞的自噬可能会减少血小板的坏死以及增强巨噬细胞的吞噬能力,从而影响心肌的重塑。但自噬受微环境的影响而发挥不同的效应,目前心肌梗死重塑和巨噬细胞自噬的相关研究还未见相关报道。有研究表明脂联素可通过腺苷酸 5' 单磷酸激活的蛋白激酶途径来增强巨噬细胞自噬^[23],继而可能会减少心肌纤维化的发生;此研究中,用血管紧张素 II 增加小鼠的心肌炎症细胞浸润,并分为脂联素基因敲除小鼠组和正常小鼠组,基因敲除小鼠组的 I 型胶原蛋白、 α 平滑肌肌动蛋白、IL-1 β 、TNF- α 以及心肌细胞浸润的巨

噬细胞增多,且巨噬细胞中微管相关蛋白 1 轻链 3 阳性的自噬体明显减少。在巨噬细胞敲除 Atg5 后,脂联素敲除小鼠的巨噬细胞自噬和抗炎因子的表达明显减少。Zhao 等^[21]研究也表明巨噬细胞 Atg5 单倍体不足减少线粒体自噬,增加 ROS 的释放和巨噬细胞促炎因子的分泌。而 ROS 是促进核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 合成和炎症反应的重要因素^[24],因此 ROS 可影响心脏的炎症反应及纤维化的发生。但实验都未明确巨噬细胞自噬影响心肌纤维化的具体机制及通路。组织蛋白酶 (cathepsin, Cat) 包括 S、K、C、V、W 半胱氨酸蛋白酶家族,在炎症性疾病中起到重要的作用,且可在巨噬细胞中表达。Pan 等^[25]进一步研究发现 Cat S 敲除小鼠巨噬细胞的线粒体自噬增强,产生 ROS 和 NF- κ B 增多,且增强血管紧张素 II 诱导的心肌纤维化。但此研究与 Zhao 等^[21]的研究结果相反,可能与不同的环境中自噬发挥的作用不同有关^[8],这还需进一步的研究证实。

自噬能使肥大细胞脱颗粒^[26],肥大细胞自噬可能通过此途径来影响纤维化的发生。Frech 等^[27]初步研究得出肥大细胞自噬可能与系统性硬化病有关。目前还没有其他的炎症细胞如肥大细胞或淋巴细胞自噬与心肌纤维化有关的相关报道。

3 展望

心肌纤维化时心脏的收缩和舒张功能都有不同程度的受限,抗心肌纤维化治疗具有重要的临床价值。虽然目前对心肌纤维化的基础研究有很多,但抗纤维化的明确机制还不清楚,临床上仍没有具体的抗纤维化治疗的药物。炎症作为心肌纤维化发生发展的重要因素也必将越来越受人们的关注,炎症细胞通过自噬影响炎症细胞功能也将成为干预心肌纤维化发生发展的新靶点。

[参考文献]

- [1] Kong P, Christia P, Frangogiannis NG. The pathogenesis of cardiac fibrosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(4): 549-574.
- [2] 唐淑丽,朱敏玲,尹新华. 自噬在常见心血管疾病中的作用[J]. 心脏杂志, 2012, 24(5): 655-657.
- [3] Ramachandran P, Pellicoro A, Vernon MA, et al. Differential Ly6C expression identifies the recruited macrophage phenotype, which orchestrates the regression of murine liver fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(46):

E3 186-195.

- [4] 谭玉林, 曾颖, 莫中成, 等. 高糖依赖过氧化体增殖物激活型受体介导 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达及脂质蓄积[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(7): 669-674.
- [5] Blyszczuk P, Berthonneche C, Behnke S, et al. Nitric oxide synthase 2 is required for conversion of pro-fibrogenic inflammatory CD133⁺ progenitors into F4/80⁺ macrophages in experimental autoimmune myocarditis [J]. Cardiovasc Res, 2013, 97(2): 219-229.
- [6] 杨向东, 姜宜成, 沈成兴, 等. 脂多糖动员骨髓 CD11b⁺ Gr-1⁺ 髓系抑制细胞及其吞噬氧化型低密度脂蛋白形成泡沫细胞[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(3): 189-192.
- [7] Usher MG, Duan SZ, Ivaschenko CY, et al. Myeloid mineralocorticoid receptor controls macrophage polarization and cardiovascular hypertrophy and remodeling in mice [J]. J Clin Invest, 2010, 120(9): 3350-3364.
- [8] Wynn TA, Barron L. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis [J]. Semin Liver Dis, 2010, 30(3): 245-257.
- [9] Fernández-Velasco M, González-Ramos S, Boscá L. Involvement of monocytes/macrophages as key factors in the development and progression of cardiovascular diseases [J]. Biochem J, 2014, 458(2): 187-193.
- [10] Levick SP, Meléndez GC, Plante E, et al. Cardiac mast cells: the centrepiece in adverse myocardial remodelling [J]. Cardiovasc Res, 2011, 89(1): 12-19.
- [11] McLarty JL, Meléndez GC, Brower GL, et al. Tryptase/protease-activated receptor 2 interactions induce selective mitogen-activated protein kinase signaling and collagen synthesis by cardiac fibroblasts [J]. Hypertension, 2011, 58(2): 264-270.
- [12] Liao CH, Akazawa H, Tamagawa M, et al. Cardiac mast cells cause atrial fibrillation through PDGF-A-mediated fibrosis in pressure-overloaded mouse hearts [J]. J Clin Invest, 2010, 120(1): 242-253.
- [13] Trial J, Cieslik KA, Haudek SB, et al. Th1/M1 conversion to Th2/M2 responses in models of inflammation lacking cell death stimulates maturation of monocyte precursors to fibroblasts [J]. Front Immunol, 2013, 4: 287.
- [14] Cieslik KA, Taffet GE, Carlson S, et al. Immune-inflammatory dysregulation modulates the incidence of progressive fibrosis and diastolic stiffness in the aging heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 2011, 50(1): 248-256.
- [15] Baldeviano GC, Barin JG, Talor MV, et al. Interleukin-17A is dispensable for myocarditis but essential for the progression to dilated cardiomyopathy [J]. Circ Res, 2010, 106(10): 1646-655.
- [16] Kanellakis P, Dinh TN, Agrotis A, et al. CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells suppress cardiac fibrosis in the hypertensive heart [J]. J Hypertens, 2011, 29(9): 1820-828.
- [17] Kvakani H, Kleinewietfeld M, Qadri F, et al. Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage [J]. Circulation, 2009, 119(22): 2904-912.
- [18] Tang TT, Yuan J, Zhu ZF, et al. Regulatory T cells ameliorate cardiac remodeling after myocardial infarction [J]. Basic Res Cardiol, 2012, 107(1): 232.
- [19] 曾敏, 颜红兵. 自噬与心肌缺血再灌注 [J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(8): 711-713.
- [20] Liu K, Zhao E, Ilyas G, et al. Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization [J]. Autophagy, 2015, 11(2): 271-284.
- [21] Zhao W, Li Y, Jia L, et al. Atg5 deficiency-mediated mitophagy aggravates cardiac inflammation and injury in response to angiotensin II [J]. Free Radic Biol Med, 2014, 69: 108-115.
- [22] Liao X, Sluimer JC, Wang Y, et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis [J]. Cell Metab, 2012, 15(4): 545-553.
- [23] Qi GM, Jia LX, Li YL, et al. Adiponectin suppresses angiotensin II-induced inflammation and cardiac fibrosis through activation of macrophage autophagy [J]. Endocrinology, 2014, 155(6): 2254-265.
- [24] Quan Y, Jiang CT, Xue B, et al. High glucose stimulates TNF- α and MCP-1 expression in rat microglia via ROS and NF- κ B pathways [J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(2): 188-193.
- [25] Pan L, Li Y, Jia L, et al. Cathepsin S deficiency results in abnormal accumulation of autophagosomes in macrophages and enhances Ang II-induced cardiac inflammation [J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35315.
- [26] Ushio H, Ueno T, Kojima Y, et al. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells [J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(5): 1267-276.
- [27] Frech T, De Domenico I, Murtaugh MA, et al. Autophagy is a key feature in the pathogenesis of systemic sclerosis [J]. Rheumatol Int, 2014, 34(3): 435-439.

(此文编辑 曾学清)