

TGF- β 促纤维化机制及中药干预的研究进展

王荣国¹, 周卫², 章永东²

(1. 北京中医药大学针灸学院, 北京 100029; 2. 中国中医科学院望京医院)

【摘要】 转化生长因子(TGF- β)是影响伤口愈合与瘢痕形成的重要生物因子,它能促进细胞增殖、迁移、分化和凋亡,同时刺激细胞外基质沉积和胶原过度产生。TGF- β 的生物作用受到很多相关因子的调节(核心蛋白聚糖、结缔组织生长因子等)。中药治疗纤维化及瘢痕有其独特疗效,在减少瘢痕的同时能加速伤口愈合。越来越多的实验证实单味中药或中药复方能通过减少 TGF- β 的表达而抑制纤维化,最终减轻瘢痕形成。本文综述了近年来 TGF- β 调控瘢痕形成的机制和中药通过控制 TGF- β 的作用而减少纤维化的研究现状。

【关键词】 转化生长因子 β ; 瘢痕; 纤维化; 中医药; 综述文献

Study on the progress of the mechanism of TGF- β in the scarring and the effect of TCM WANG Rong-guo*, ZHOU Wei, ZHANG Yong-dong. *School of Acupuncture, Moxibustion & Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

ABSTRACT Transforming growth factor(TGF- β) plays a central role in wound healing and scarring. TGF- β is a member of cytokine family, involving cell proliferation, migration, differentiation and apoptosis, which subsequently trigger extracellular matrix(ECM) deposite and collagen overproduction. A number of regulators of TGF- β expression have been identified, including Decorin, CTGF, etc. TCM can reduced later scarring, and it accelerates wound healing. TCM can reduce the expression of TGF- β , resistance of fibrosis, so that lighten the development of scar. This article reviewed the mechanism of TGF- β in the scarring and TCM can decrease the development of scar effected by TGF- β .

Key words Transforming growth factor beta, TGF- β ; Cicatrix; Fibrosis; Traditional Chinese medicine; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(2)161-163 www.zggszz.com

TGF- β 是一种能调节细胞增殖、分化、细胞间基质蛋白表达的多功能细胞生长因子。随着瘢痕研究的进展,人们发现 TGF- β_1 具有很强的促纤维化及瘢痕形成的作用。在中医药领域中已经发现越来越多的中药能通过控制 TGF- β 的作用途径防治纤维化及瘢痕形成。

1 TGF- β 与纤维化及瘢痕形成

1.1 TGF- β 与成纤维细胞(FB) TGF- β_1 的主要功能是促进 FB 的增殖并促进其合成胶原、纤维粘连蛋白(FN)等细胞外基质(ECM),同时抑制蛋白酶和基质酶的活性,促进 ECM 沉积。Ghella 等^[1]研究表明 FB 中 TGF- β_1 mRNA 表达在术后 2~7 d 显著增高。瘢痕组织的 FB 中 TGF- β_1 的 mRNA 表达是正常组织的 5 倍^[2]。Lu 等^[3]认为 TGF- β_1 主要在病程 1 年以内的增生性瘢痕(HTS)组织中表达,在伤后 1 周内对伤口的愈合非常重要,1 周后才对瘢痕形成起关键作用。

1.2 TGF- β 与 ECM TGF- β 是 ECM 过度沉积的主要调节因子之一,TGF- β 过度表达会扰乱胶原合成与降解之间的平衡,并且 TGF- β 对 ECM 合成和沉积的作用主要由 TGF- β_1 型受体(T β R1)介导。TGF- β_1 促进 I 型胶原合成和基质金属蛋白

酶抑制剂 1(TIMP-1)的高表达,而抑制基质金属蛋白酶 1(MMP-1)的活性,导致 I、III 型胶原比例增高^[4]。而重组人转化生长因子 β_3 (rhTGF- β_3)对 FB 中 III 型胶原的相对含量提高明显,有加速创面愈合及减少瘢痕形成的作用^[5]。TGF- β_1 在瘢痕形成过程中的作用可能与其刺激 FB 过度表达 FN 及 $\alpha 5\beta_1$ 整合素有关。Niessen 等^[6]认为 TGF- β_1 作用可能通过其自身受体介导的酪氨酸激酶磷酸化而导致细胞内磷酸酪氨酸含量的变化,进而影响被调控基因的转录活性,使 FN、整合素及胶原合成增加。谢举临等^[7]研究发现 10~50 $\mu\text{g/L}$ 的 TGF- β_1 可明显刺激 FN 的合成;而对 $\alpha 5\beta_1$ 整合素的诱导作用以 100 $\mu\text{g/L}$ 时最大,但濮孟辉等^[8]认为在 25 $\mu\text{g/L}$ 时才对 FN 的表达有影响。

从以上看来,TGF- β 促进 ECM 沉积的机制可能有:①增加 I、III 型胶原沉积,特别是 I 型胶原;②抑制胶原酶活性;③促进 FN 及 $\alpha 5\beta_1$ 整合素的表达;④其他因素。

1.3 TGF- β 与 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA) α -SMA 作为细胞骨架蛋白,是肌成纤维细胞(mFB)收缩的典型标志,它通过跨膜复合物 Fibronexus 把 mFB 的收缩传导至整块组织,是瘢痕收缩的物质基础^[9]。田宜肥等^[10]证明数学模型 TGF- β_1 +TGF- β_2 +TGF- β_3 与 α -SMA 呈正相关。5 ng/ml TGF- β_1 可诱导静止期 FB 向 mFB 转化,并且 α -SMA 的表达也逐渐增加^[11],然而

mFB 在硅胶平板上的迁移速度较正常 FB 慢 30%^[12], α -SMA 的高表达增强了瘢痕的黏着程度^[13]。抗 TGF- β_1 中和抗体血清可使 FB 中 α -SMA 的表达水平下降。

2 影响 TGF- β 促瘢痕形成的因素

研究发现 TGF- β 促瘢痕形成的作用受到很多因素的调节,如 DCN、CTGF、PGE2、bFGF 及激素等对 TGF- β 的作用有不同的影响。

2.1 核心蛋白聚糖 核心蛋白聚糖(Decorin,DCN)作为一种体内天然 TGF- β 负性调节因子,起到与 TGF- β 单克隆抗体一样的抗纤维化作用,在 TGF- β_1 的产生中起负反馈调节作用。Markmann 等^[14]发现 DCN 表达与 TGF- β 介导的胶原凝胶的回收及双链蛋白聚糖反应成反比,认为 DCN 在 ECM 中对 TGF- β 起隔离而不是灭活的作用。DCN 负性调节 TGF- β 的机制可能是通过与 TGF- β 受体的竞争性结合 TGF- β 实现的。

2.2 结缔组织生长因子 结缔组织生长因子(CTGF)是介导 TGF- β_1 促纤维化作用的一个重要下游因子,应用反义 CTGF 技术或抗 CTGF 的中和抗体可以阻断 TGF- β_1 引起的促纤维化效应。杨敏等^[15]发现 CTGF 和 TGF- β_1 可协同下调肾 FB 产生 MMP-2,并促进 mFB 生成。但 Abreu 等^[16]发现 CTGF 在胞外通过其富含半胱氨酸结构域直接与 TGF- β_1 结合,促进 TGF- β_1 与受体结合而发挥效应。另外,IL-4 和 PGE2 能下调被 TGF- β 刺激的 FB 表达 CTGF mRNA,但 IL-4 不影响 FN 和 α (I) 胶原的表达^[17]。目前对 CTGF 与 TGF- β 之间的相互影响的机制研究还比较少,但 CTGF 是一种特异性更强的选择性干预结缔组织形成的靶细胞因子,阻断其表达可能更特异、更有效、更安全地治疗纤维化疾病。

2.3 其他因素 Tredget 等^[18]证明 IFN- α 、IFN- γ 或两者联合使用可以拮抗 TGF- β 刺激胶原合成。朱金明等^[19]首次发现 P 物质可以上调 FB 中的 TGF- $\beta_{1,2}$ 及 T β R-1/R-2 mRNA 表达,且 TGF- β_1 对 P 物质的敏感性高于 TGF- β_2 。另外,HA 能减弱 TGF- β 对 MMP-1 活性的抑制,4-硫酸软骨素(Ch-4-S)能显著增加 TGF- β 促胶原合成的作用。17- β 雌二醇、孕酮可促进 HTS 中 TGF- β_1 的合成,其中 17- β 雌二醇的作用尤为明显。

3 中医药对 TGF- β 的抑制作用

中医药认为纤维化及瘢痕形成主要由气血壅滞、经络痹阻、痰湿搏结或三者相辅作用而成,治疗药物主要是活血化瘀、攻毒散结为主。目前已经发现越来越多的中药能通过抑制 TGF- β 途径防治纤维化及瘢痕形成。

3.1 单味中药的研究 丹参是活血化瘀的代表药,沈静等^[20]证实丹参药膜在炎症反应阶段能有效刺激 TGF- β 表达而促进创伤修复,在组织塑型阶段恢复至正常水平。郝丽荣等^[21]在大鼠腹腔内注射川芎嗪能预防腹膜纤维化的进程,并且组织中 TGF- β_1 的浓度也明显下降。Wen-Jian 等^[22]用 80 mg/L 川芎嗪抑制哮喘大鼠气道壁 III 型胶原沉积和 TGF- β_1 表达,但对 I 型胶原的表达无影响。姚恒等^[23]研究证实三七皂甙能使 FB 停滞在 S 期,并且抑制 TGF- β_1 的表达。石小枫等^[24]研究发现三七皂甙能抑制肝纤维化大鼠 I、III 型胶原及 TGF- β_1 的合成表达,减轻肝纤维化程度。由此看来,活血化瘀药物抗组织纤维化作用可能都是通过抑制 TGF- β_1 的合成表达来实现的。

清热解毒类中药积雪草的提取物积雪草甙也被证实能抑

制纤维化或瘢痕形成。谢举临等^[25]证实积雪草甙能通过抑制 TGF- β 表达来抑制 FB 增殖及胶原合成。进一步发现经积雪草甙处理的成纤维细胞 Smad 7 表达增强,而对 Smad 2 的影响并不大,但不能排除积雪草甙可通过阻断其他 R-Smads 及 Smad 4 的激活来抑制 FB 增殖^[26]。根据对清热解毒中药已有的研究,其药理学作用主要是抗炎,那么积雪草甙的这种作用就有可能是通过抑制炎症反应而减少 TGF- β 表达的,值得我们深入研究。

其他,刘德伍等^[27]发现粉防己碱在不抑制瘢痕成纤维细胞 DNA 合成的药物浓度(3 μ g/ml)时可显著抑制 PDGF-BB 和 TGF- β 诱导的实验细胞 DNA 及胶原合成。由于粉防己碱是一种钙离子拮抗剂,所以也可能是直接阻断钙离子通道抑制胶原基质收缩实现的,而不是通过抑制 TGF- β 的功能。王晓军等^[28]研究认为槲皮素减少胶原合成的机制之一是抑制了 TGF- β_1 基因,从而在转录水平降低了 I、III 型前胶原基因水平。

3.2 中药复方的研究 俞力行等^[29]推测中药熏洗方可能通过阻抑滑膜细胞对 TGF- β_1 的表达及自分泌,进而下调 III 型胶原 mRNA 的表达,从而在转录水平上调胶原的合成。周辉等^[30]发现活血止痛汤在术后 2 周能显著减少家兔硬膜外瘢痕中 TGF- β_1 的表达。张铁锋等^[31]研究中发现中药汤剂国圣 1 号在大鼠肺间质纤维化造模第 28 天能明显降低 TGF- β_1 的表达,而对 IL-6 的作用不明显。宋仕玲等^[32]研究认为金三莪药能减轻实验性大鼠肝纤维化的程度,并抑制纤维膈中 TGF- β_1 和 CTGF 的表达,减少 ECM 沉积。进一步研究发现金三莪的有效机制与抑制肝脏 TGF- β_1 、T β R1、2 及 Smad 3 表达,并促进 Smad 7 表达有关^[33]。相反,王伟等^[34]认为复方迪康胶囊增加大鼠肝星状细胞 T β R2 的表达,通过 T β R2 抑制细胞增殖,表现出抗肝纤维化作用。张国等^[35]认为活血软坚方的抗肝纤维化作用可能是通过非特异性作用干扰 TGF- β 和 Smad 功能,抑制前胶原 α 2(I) mRNA 转录,减少 ECM 生成。黄长海等^[36]研究表明当归黄芪合剂在肾纤维化中能抑制 TGF- β_1 和骨桥蛋白的上调,减轻单核、巨噬细胞的表达,下调 CTGF 的表达,抑制 mFB 形成,防治肾间质纤维化。

4 问题及展望

TGF- β 作为与纤维化及瘢痕形成关系最密切的因素之一,对其不同亚型在瘢痕形成不同时期的比例的调控、生物活性、与其他细胞因子的相互作用等方面的进一步研究,将成为控制 TGF- β 安全有效地解决促进创面愈合而减少瘢痕形成这一矛盾的新方向。通过辨证施治,应用中医药方法调节 TGF- β 的生物学作用,达到既快速促进愈合,又减少瘢痕形成是中医治疗特色的充分体现。中药抗 TGF- β 促纤维化及瘢痕形成机制的研究将为中药抗类似生物因子的研究提供宝贵经验,为防治外科术后瘢痕粘连的形成开辟新途径。

参考文献

- Ghella AM, Stucchi AF, Chegini N, et al. Role of transforming growth factor beta -1 in peritonitis -induced adhesions. J Gastrointest Surg, 2000, 4(3): 316-323.
- Wang R, Ghahary A, Shen Q, et al. Hypertrophic scar tissues and fibroblasts produce more transforming growth factor-beta1 mRNA and protein than normal skin and cells. Wound Repair Regen, 2000, 8

- (2):128-137.
- 3 Lu L, Saulis AS, Liu WR, et al. The temporal effects of anti-TGF-beta1, 2, and 3 monoclonal antibody on wound healing and hypertrophic scar formation. *J Am Coll Surg*, 2005, 201(3):391-397.
 - 4 邱林, 金先庆, 向代理, 等. 不同年龄烧伤患者增生性瘢痕的胶原构成及影响因素的研究. *中华烧伤杂志*, 2003, 19(4):236-240.
 - 5 章庆国, 林鹤, 冷永成, 等. 转化生长因子 β_3 对人增生性瘢痕成纤维细胞 I、III 型胶原表达的影响. *东南大学学报(医学版)*, 2002, 21(1):56-60.
 - 6 Niessen FB, Andriessen MP, Schalkwijk J, et al. Keratinocyte-derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars. *J Pathol*, 2001, 194(2):207-216.
 - 7 谢举临, 利天增, 祁少海, 等. 转化生长因子 β_1 对瘢痕成纤维细胞纤维粘连蛋白及其受体 $\alpha_5\beta_1$ 整合素表达的影响. *中华医学美容美容杂志*, 2004, 10(5):289-292.
 - 8 濮孟辉, 金东岭, 田珂. 转化生长因子- β_1 对瘢痕成纤维细胞的调节意义. *中国全科医学*, 2005, 8(14):1179-1180.
 - 9 Desmoulière A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*, 2005, 13(1):7-12.
 - 10 田宜肥, 汤少明, 罗少军, 等. TGF- β 和 α -SMA 在瘢痕组织中的表达及相关性研究. *中华整形外科杂志*, 2000, 16(2):75-77.
 - 11 黄辉, 唐胜建, 鲍卫汉. α -平滑肌肌动蛋白在瘢痕成纤维细胞中的表达. *中国修复重建外科杂志*, 2001, 15(6):347-350.
 - 12 Thampatty BP, Wang JH. A new approach to study fibroblast migration. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2007, 64(1):1-5.
 - 13 Dabiri G, Campaner A, Morgan JR, et al. A TGF-beta1-dependent autocrine loop regulates the structure of focal adhesions in hypertrophic scar fibroblasts. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(5):963-970.
 - 14 Markmann A, Hausser H, Schönherr E, et al. Influence of decorin expression on transforming growth factor-beta-mediated collagen gel retraction and biglycan induction. *Matrix Biol*, 2000, 19(7):631-636.
 - 15 杨敏, 黄海长, 李惊子, 等. 结缔组织生长因子协同转化生长因子 β_1 的促肾纤维化效应. *中华医学杂志*, 2004, 84(7):569-573.
 - 16 Abreu JG, Ketpura NI, Reversade B, et al. Connective-tissue growth factor(CTGF)modulates cell signalling by BMP and TGF-beta. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(8):599-604.
 - 17 Rishikof DC, Ricupero DA, Kuang PP, et al. Interleukin-4 regulates connective tissue growth factor expression in human lung fibroblasts. *J Cell Biochem*, 2002, 85(3):496-504.
 - 18 Tredget EE, Wang R, Shen Q, et al. Transforming growth factor-beta mRNA and protein in hypertrophic scar tissues and fibroblasts: antagonism by IFN-alpha and IFN-gamma in vitro and in vivo. *J Interferon Cytokine Res*, 2000, 20(2):143-151.
 - 19 朱金明, 赖西南, 王正国, 等. P 物质对大鼠成纤维细胞转化生长因子 β_1 及其受体基因表达的影响. *中国现代医学杂志*, 2003, 13(12):5-8.
 - 20 沈静, 朱海青, 肇毅, 等. 丹参药膜对胃壁创伤组织 TGF- β 表达的病理观察. *河南中医*, 2004, 24(3):31-32.
 - 21 郝丽荣, 王春梅, 李春玲. 川芎嗪防治腹膜纤维化作用的实验研究. *中国血液净化*, 2006, 5(8):437-439.
 - 22 Wen-Jian WANG, Li YANG, Xi-Hua WANG, et al. Effect of ligustrazine on the levels of collagen and transforming growth factor- β_1 in rats with asthma. *Chin J Contemp Pediatr*, 2004, 6(3):171-175.
 - 23 姚恒, 李世荣, 刘剑毅. 三七总皂甙对人增生性瘢痕成纤维细胞 TGF- β 和细胞周期的作用. *中国实用美容整形外科杂志*, 2005, 16(4):243-245.
 - 24 石小枫, 徐曼, 刘杞. 三七总皂甙对肝纤维化大鼠 I、III 型胶原及 TGF- β_1 的影响. *中药药理与临床*, 2001, 17(2):7-8.
 - 25 谢举临, 利天增, 祁少海, 等. 积雪草甙对体外培养的成纤维细胞的作用. *中山医科大学学报*, 2001, 22(1):41-43.
 - 26 潘姝, 利天增, 李叶扬, 等. 积雪草甙对瘢痕成纤维细胞增殖与磷酸化 Smad 2 和 Smad 7 表达的影响. *中国临床康复*, 2005, 9(10):230-231.
 - 27 刘德伍, 李国辉, 邹萍, 等. 粉防己碱对 PDGF、TG- β 诱导瘢痕成纤维细胞增殖与胶原合成的抑制作用. *中药药理与临床*, 2004, 20(4):10-11.
 - 28 王晓军, 龙笑. 槲皮素对瘢痕疙瘩成纤维细胞胶原合成的影响. *整形再造外科杂志*, 2005, 2(3):137-140.
 - 29 俞力行, 张友定, 姜宏. 熏洗方对大鼠骨折后期僵硬关节滑膜型胶原 mRNA 及 TGF- β_1 表达的影响. *中医正骨*, 2005, 17(1):7-9.
 - 30 周辉, 郑悦亮, 赵万军, 等. 活血止痛汤对兔硬膜外瘢痕中 TGF- β_1 表达的影响. *中国中医骨伤科杂志*, 2005, 13(2):7-9.
 - 31 张铁锋, 修清玉, 楼标雷, 等. 中药国圣一号对转化生长因子- β_1 和白介素-6 在肺纤维化模型大鼠肺组织中表达的影响. *上海医学*, 2005, 28(6):499-503.
 - 32 宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. 中药金三棱方对实验性肝纤维化大鼠结缔组织生长因子及转化生长因子 β_1 mRNA 表达及定位的影响. *解放军医学杂志*, 2004, 29(2):130-133.
 - 33 宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. 金三棱对肝纤维化大鼠 TGF- β_1 及其 I、II 型受体 mRNA 与 Smad 3、Smad 7 表达的影响. *中医药学刊*, 2004, 22(6):1044-1047.
 - 34 王伟, 张立煌, 姚航平, 等. 迪康胶囊对二甲基亚硝酸诱导的肝纤维化大鼠星状细胞 TGF- β II 型受体表达的影响. *中国免疫学杂志*, 2003, 19(11):690-692.
 - 35 张国, 张法灿, 王天才, 等. 活血软坚方对肝星状细胞 Smad 信号的影响及意义. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12(4):213.
 - 36 黄长海, 闵亚丽, 李惊子, 等. 黄芪当归合剂及依那普利对结缔组织生长因子在肾间质中表达的比较研究. *中华肾脏病杂志*, 2003, 19(3):133-137.

(收稿日期:2007-04-22 本文编辑:王宏)