



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.024

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.024>

· 继续教育园地 ·

## 特发性肺纤维化衰老相关发病机制及治疗的研究进展

韩闪 陈茂庆 刘晓秋

**【摘要】** 特发性肺纤维化(IPF)是一种最常见的特发性间质性肺炎,是基因易感性和环境因素等复杂病理机制相互作用的结果,好发生于中老年人群,年龄为 IPF 重要的危险因素。近年来对衰老生物学的研究有了较大进步。目前提出的许多衰老的特征如基因组不稳定性、端粒磨损、基因表观遗传学的改变、自噬降低、线粒体功能失调、衰老相关分泌表型、内质网应激、干细胞功能障碍等均是 IPF 发展的重要机制。本文对衰老多种机制在 IPF 发病中作用的最新研究进展进行综述,以更好地理解 IPF 衰老的异常改变,有助于设计和开发新的抗纤维化治疗药物。

**【关键词】** 衰老; 特发性肺纤维化; 机制; 治疗

**【中图分类号】** R563.9

**【文献标识码】** A

特发性肺纤维化(IPF)是一种病因未明的进行性、不可逆性、致死性的肺间质性疾病。IPF 的发病及其进展机制尚不清楚。IPF 无法治愈,目前的抗纤维化治疗只能部分阻止纤维化的进程<sup>[1]</sup>。既往研究结果显示,IPF 是一种衰老相关性疾病,约 2/3 的 IPF 患者年龄超过 60 岁,平均诊断年龄为 66 岁<sup>[2]</sup>。IPF 常发生于老年人,而很少发生于年轻人,提示年龄和此疾病相关。然而衰老促进肺纤维化的机制尚不明确。IPF 可能同衰老过程有共同的病理生理机制<sup>[3]</sup>,衰老的特征在肺纤维化形成中的作用是目前探讨的热点<sup>[4]</sup>。本文主要对 IPF 衰老相关发病机制及治疗进展进行综述。

### 一、基因的不稳定性与 IPF

随着年龄增加而引起的 DNA 累积损伤是公认的衰老特征。随着年龄增长,当异常基因持续存在时,会破坏细胞基因组的稳定性,从而导致细胞稳态失调。研究表明,与健康人群相比,50% 的 IPF 患者痰液样本中细胞表现出基因改变、微卫星不稳定性(MSI)或杂合性丧失(LOH),且 IPF 患者肺蜂窝结构中也存在 MSI。在 IPF 患者中,基因微卫星不稳定性与基因丢失的基因学改变最为常见<sup>[5]</sup>,细胞核及线粒体 DNA 累计损伤伴随整个衰老过程<sup>[6]</sup>。总之,IPF 患者肺细胞存在慢性 DNA 损伤。尽管 IPF 的主要病因尚不清楚,但是对部分患者而言,基因异常如表面活性蛋白 A2(SFTPA2)、表面活性剂蛋白 C(SFTPC)、ELMO/CED-12 结构域 2(ELMOD2)、粘蛋白 5B(MUC5B)、转化生长因子(TGF)- $\beta_1$  和两个端粒酶基因(hTERT 和 hTR)均被认为是肺纤维化的危险因素。新的证据表明,DNA 修复机制的增强可能延长 IPF 患者的寿命和治疗衰老相关疾病<sup>[7]</sup>。

基金项目:吉林省科技厅自然科学基金资助项目(20160101089JC);吉林省卫生计生科研计划课题(20152020)

作者单位:130041 长春,吉林大学第二医院呼吸与危重症科(韩闪、刘晓秋);淄博市中心医院呼吸与危重症科(陈茂庆)

通讯作者:刘晓秋,E-mail:liuxiaoq@jlu.edu.cn

### 二、端粒磨损与 IPF

在众多衰老学说中,端粒缩短被认为是细胞衰老最有影响的机制<sup>[8]</sup>,端粒缩短时激活 DNA 引起细胞衰老和凋亡。端粒缩短是 IPF 的一个危险因素<sup>[9]</sup>,端粒酶突变也是家族性 IPF 的最常见原因。此外,即使在缺乏端粒酶突变的情况下,端粒耗损在 IPF 患者中也较常见<sup>[9]</sup>。近年来,端粒缩短引起 IPF 的机制研究有一些进展。有研究者通过检测基因组发现,IPF 可由端粒酶的 RNA 组件(TERC)和端粒酶逆转录酶基因(TERT)突变引起<sup>[10]</sup>。还有研究者推测,在 IPF 早期,成纤维细胞中端粒酶处于激活状态可促进纤维细胞大量增殖,而后期由于肺组织中 TGF- $\beta_1$  增加,增强了下游的 Smad 家族成员 3(SMAD3)的表达,驱使端粒酶活性改变和端粒的缩短,从而影响有丝分裂细胞染色体的稳定性,导致肺泡上皮细胞(AEC)复制性衰老<sup>[11]</sup>。

### 三、表观遗传学改变与 IPF

在衰老过程中还涉及 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化修饰和微小 RNA(miRNA,miR)等许多表观遗传学机制。

1. DNA 甲基化和组蛋白乙酰化与 IPF:DNA 甲基化是一种表观遗传修饰,被称为表观遗传老化时钟。DNA 甲基化很可能是表观遗传改变参与 IPF 发病的机制之一。越来越多的研究表明,IPF 病理机制中异常的 DNA 甲基化改变了许多基因的表达<sup>[12-13]</sup>。体内和体外 DNA 甲基化导致肺成纤维细胞的细胞表面蛋白 Thy-1(CD90)沉默,促进成纤维细胞分化及抗凋亡<sup>[12]</sup>。研究证实,在 IPF 患者的成纤维病灶中,Thy-1 阴性的成纤维细胞内存在 Thy-1 启动子甲基化<sup>[14]</sup>。IPF 患者 DNA 甲基化模式发生改变,然而这些变化如何参与与衰老过程相关机制仍不清楚,有待进一步研究。组蛋白乙酰化后修饰也参与 DNA 转录的调节。衰老可以改变组蛋白乙酰化。研究表明,一个随衰老而改变表达模式的组蛋白去乙酰酶家族(sirtuins)可能是原因之一<sup>[15]</sup>。其中,SIRT1、SIRT3、SIRT6 和 SIRT7 对 IPF 抑制有积极作用。如 SIRT1 通过其启动子区的组蛋白去乙酰化抑制衰

老相关分泌表型(SASP)因子。近年来, Sanders 等<sup>[16]</sup>报道了组蛋白乙酰化的药理调节对博来霉素诱导的小鼠肺纤维化的改善作用,为 IPF 的治疗提供了新途径。

2. miRNA: 近期研究表明,在 IPF 发展过程中有两类 miRNA: 促纤维化的 miRNA 和抗纤维化的 miRNA。这两类 miRNA 失衡或改变与 IPF 进程密切相关。已经有部分 miRNA 被证明与肺纤维化的发病机制密切相关<sup>[17]</sup>。在纤维化的肺组织中,多种 miRNA 如 miR-21、miR-96、miR154 出现高表达,且与肺纤维化密切相关,而 miR-29、miR-155、miR-200 和 miR326 表达降低<sup>[18]</sup>。研究表明,miRNA-29 的低表达是肺纤维化进展的原因。采用 miRNA-29 基因治疗降低了博来霉素所致的胶原合成,逆转了肺纤维化,表明 miRNA-29 可能成为治疗肺纤维化的新方法<sup>[18]</sup>。miR-155 超表达也可以减弱 TGF- $\beta$  对纤维母细胞增殖、迁移和胶原蛋白合成的刺激作用<sup>[19]</sup>。因此,采用 miRNA 类似物、恢复或增强 miRNA 的功能或使用 miRNA 靶向抑制剂可能是预防或逆转 IPF 进展的有效方法<sup>[20]</sup>。

#### 四、自噬作用与 IPF

据报道,IPF 患者肺组织的自噬活性降低,可能有助于快速和持续的成纤维细胞分化和对肺成纤维细胞凋亡的抵抗作用,且使 AEC 衰老永久化<sup>[21]</sup>。衰老小鼠肺损伤后出现自噬活性降低,有研究者发现,阻断 Toll 样受体(TLR)2 可抑制博来霉素诱导的肺纤维化的发生和发展,而阻断 TLR4 却具有加重肺纤维化的作用,产生这种差异的原因在于阻断 TLR4 会强烈抑制自噬反应,提示自噬对炎症和纤维化的清除具有关键作用<sup>[22]</sup>。自噬可清除炎症诱导物、慢性炎症及损伤的细胞器,是抑制 IPF 发生的重要机制。目前基于这一观点,激活自噬的药物可能是抗组织纤维化的新选择<sup>[23]</sup>。干扰素  $\gamma$  是强大的自噬激动剂<sup>[24]</sup>,能够改善患者症状和肺功能并延长生存时间。IPF 患者肺部自噬不足与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)持续激活有关。衰老有助于降低在基础和饥饿条件下诱导 mTOR 途径激活介导的自噬作用。作用于 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的雷帕霉素可明显改善饥饿诱导的 IPF 成纤维细胞自噬和凋亡<sup>[25]</sup>。

#### 五、SASP 与 IPF

衰老不仅是细胞周期的停滞,而且衰老的细胞还可分泌 SASP 调节组织微环境。SASP 是年龄相关性炎症的主要驱动因素<sup>[26]</sup>。衰老的 AEC 通过增加 SASP 的表达促进肺成纤维细胞的活化。SASP 可促进局部和潜在的全身炎症,破坏组织细胞,并增强细胞向恶性转化。IPF 患者肺组织中成纤维细胞和肌成纤维细胞呈现出应激和衰老的表型,分泌一系列因子,包括 TGF- $\beta$ 、白细胞介素(IL)-6、IL-1 $\beta$  和基质金属蛋白酶(MMP)-12,在调节 IPF 的纤维化和炎症方面具有重要作用<sup>[27]</sup>,表明 SASP 是 IPF 病理学的重要介质。

#### 六、线粒体功能异常与 IPF

线粒体完整性受损和功能受损是衰老的特征,越来越多证据表明其与肺纤维化也有关。研究表明,IPF 患者线粒体具有明显形态学缺陷,IPF 患者线粒体稳态调节蛋白 PINK1、PARK2

和 NFR1 表达水平明显降低<sup>[28]</sup>。此外,线粒体完整性受损包括有丝分裂减少导致线粒体累计损伤,线粒体分裂可促进细胞凋亡。PINK1 和 PINK2 介导的线粒体吞噬在老年性肺疾病的发病机制中具有重要作用<sup>[29]</sup>,如慢性阻塞性肺疾病和 IPF。IPF 患者线粒体功能障碍表现为线粒体超氧化物歧化酶(SOD)、DNA 应激及雷帕霉素复合体 1(mTORC1)的激活。线粒体在肺纤维化中的保护作用与其在活性氧平衡中的作用密切相关。然而关于线粒体功能和线粒体相关的活性氧自由基(ROS)对 IPF 的作用了解较少。既往研究结果提示,线粒体相关的 ROS 存在于 TGF- $\beta$  信号通路和促纤维化基因表达过程中<sup>[30]</sup>。ROS 的失衡可能会驱动 TGF- $\beta_1$  通路激活,TGF- $\beta_1$  的活性增强会引起 ECM 的变化,并促进线粒体功能障碍和活性氧生成,增强了对纤维化的易感性。另外介导肺纤维化过程中产生 ROS 的还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX)4 存在于线粒体中<sup>[31]</sup>。NOX4 水平增加导致超氧化物形成,提示 NOX4 在成纤维细胞老化中起作用。在老年小鼠纤维化的实验中,NOX4 基因和靶向治疗可减轻细胞衰老,且逆转持续性纤维化。上述研究结果均支持细胞氧化应激稳态失衡促进衰老相关的持续纤维化和促纤维化的肌成纤维细胞表型。通过改变作用于线粒体的靶点可为 IPF 治疗提供治疗方案。

#### 七、间充质干细胞功能障碍与 IPF

干细胞功能障碍发生于包括 IPF 在内的许多衰老相关的疾病中。既往研究证明来自 IPF 患者的间充质干细胞(MSCs)处于衰老转态。与年龄匹配的对照组比较,IPF 患者衰老的 MSCs 具有旁分泌诱导衰老的能力,可诱导正常老年成纤维细胞衰老,且参与纤维化过程。衰老的 MSCs 迁移并分化为 AEC 且修复受损肺组织的能力下降。

从目前的研究来看,间充质干细胞主要从 5 个方面对肺纤维化起作用,即端粒的调节、减少氧化应激、补充耗竭的干细胞、调节细胞免疫、调节细胞外基质。然而目前支持使用间充质细胞治疗 IPF 患者的前期临床数据较少,需要在未来的研究中关注其使用时间、理想的剂量及给药途径。因此在估计临床结果和转化应用到临床时必须考虑这些可变因素<sup>[32]</sup>。

#### 八、内质网应激与 IPF

AEC 损伤和修复失衡与肺纤维化的发病机制有关。在 IPF 患者肺组织中观察到 AEC 存在内质网应激<sup>[33]</sup>。GRP78 为内质网稳态的关键调节因子,GRP78 基因敲除的小鼠显示出内质网应激,TGF- $\beta$ /SMAD 信号通路激活,肺损伤更严重,纤维化更持久<sup>[32]</sup>。且老龄小鼠的 II 型 AEC 中 GRP78 减少,此现象在 IPF 患者中也较常见。内质网应激抑制剂牛黄去氧胆酸可改善 GRP78 基因敲除的小鼠和 IPF 患者 AEC 内质网应激和纤维化。上述研究结果都支持内质网应激导致 IPF 上皮细胞功能障碍,并提示内质网应激可能是衰老与 IPF 相互关联的机制之一。内质网应激和功能障碍的调节有望成为肺纤维化的治疗方案<sup>[34]</sup>。

#### 九、肺损伤修复异常与 IPF

衰老与损伤的器官功能相关,且可增加肺损伤及肺纤维化

进展的易感性。多种因素与肺损伤后的纤维过程中肺组织修复异常有关<sup>[35]</sup>,包括促纤维化生长因子生成增多如 TGF- $\beta_1$  和纤维粘连素表达、过多的基质糖蛋白聚集及 MMPs 的表达异常。在肺纤维化进展过程中,肺纤维化病灶内出现以细胞表面标志物 Thy-1 低表达为特征的成纤维细胞亚群<sup>[36]</sup>。Liu 等<sup>[36]</sup>采用博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型和 Thy-1 基因敲除小鼠研究 Thy-1 在肺纤维化形成中的作用,发现在纤维化形成过程中,Thy-1 表达缺失,衰老肺的成纤维细胞中 Thy-1 表达减少,Thy-1 基因敲除小鼠表现出持续的纤维化重塑和肺损伤修复异常。与年轻肺相比,衰老肺出现肺损伤后的修复异常。综上,衰老肺出现肺损伤后的修复异常参与肺纤维化的发病机制。

## 十、小结

IPF 是一种进展性、致死性弥漫性肺间质性疾病。目前尚无有效治疗方法。同时,IPF 也是一种衰老性肺疾病,衰老的机制与 IPF 的发病机制存在内在联系,理解衰老的生物学机制将更好地理解肺纤维化的发生和发展、设计与研发有效治疗 IPF 的药物提供依据。

## 参 考 文 献

- [1] King TE Jr, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet*, 2011, 378 (9807): 1949-1961.
- [2] Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, et al. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174 (7): 810-816.
- [3] Gulati S, Thannickal VJ. The Aging Lung and Idiopathic Pulmonary Fibrosis [J]. *Am J Med Sci*, 2019, 357 (5): 384-389.
- [4] Thannickal VJ. Mechanistic links between aging and lung fibrosis [J]. *Biogerontology*, 2013, 14 (6): 609-615.
- [5] Vassilakis DA, Sourvinos G, Spandidos DA, et al. Frequent genetic alterations at the microsatellite level in cytologic sputum samples of patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162 (3 Pt 1): 1115-1119.
- [6] Allen RJ, Porte J, Braybrooke R, et al. Genetic variants associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis in people of European ancestry: a genome-wide association study [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5 (11): 869-880.
- [7] Vece TJ, Schecter MG, Gatti RA, et al. Rapid and progressive pulmonary fibrosis in 2 families with DNA repair deficiencies of undetermined etiology [J]. *Pediatr*, 2012, 160 (4): 700-702, e3.
- [8] Armanios M. Telomeres and age-related disease: how telomere biology informs clinical paradigms [J]. *Clin Invest*, 2013, 123 (3): 996-1002.
- [9] Mora AL, Bueno M, Rojas M. Mitochondria in the spotlight of aging and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Clin Invest*, 2017, 127 (2): 405-414.
- [10] Bilgili H, Białas AJ, Górski P, et al. Telomere Abnormalities in the Pathobiology of Idiopathic Pulmonary Fibrosis [J]. *Clin Med*, 2019, 8 (8): 1232.
- [11] Liu YY, Shi Y, Liu Y, et al. Telomere shortening activates TGF- $\beta$ /Smads signaling in lungs and enhances both lipopolysaccharide and bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39 (11): 1735-1745.
- [12] Rabinovich EI, Kapetanaki MG, Steinfeld I, et al. Global methylation patterns in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (4): e33770.
- [13] Sanders YY, Ambalavanan N, Halloran B, et al. Altered DNA methylation profile in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186 (6): 525-535.
- [14] Cronkhite JT, Xing C, Raghu G, et al. Telomere shortening in familial and sporadic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008,

178 (7): 729-737.

- [15] Shaikh SB, Prabhu A, Bhandary YP. Targeting anti-aging protein sirtuin (Sirt) in the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Cell Biochem*, 2019, 120 (5): 6878-6885.
- [16] Sanders YY, Hagood JS, Liu H, et al. Histone deacetylase inhibition promotes fibroblast apoptosis and ameliorates pulmonary fibrosis in mice [J]. *Eur Respir J*, 2014, 43 (5): 1448-1458.
- [17] Miao C, Xiong Y, Zhang G, et al. MicroRNAs in idiopathic pulmonary fibrosis, new research progress and their pathophysiological implication [J]. *Exp Lung Res*, 2018, 44 (3): 178-190.
- [18] Xiao J, Meng XM, Huang XR, et al. miR-29 inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Mol Ther*, 2012, 20 (6): 1251-1260.
- [19] Chi L, Xiao Y, Zhu L, et al. microRNA-155 attenuates profibrotic effects of transforming growth factor-beta on human lung fibroblasts [J]. *Biol Regul Homeost Agents*, 2019, 33 (5): 1415-1424.
- [20] Montgomery RL, Yu G, Latimer PA, et al. MicroRNA mimicry blocks pulmonary fibrosis [J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6 (10): 1347-1356.
- [21] Kuwano K, Araya J, Hara H, et al. Cellular senescence and autophagy in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) [J]. *Respir Investig*, 2016, 54 (6): 397-406.
- [22] He Z, Wang X, Deng Y, et al. Epigenetic regulation of Thy-1 gene expression by histone modification is involved in lipopolysaccharide-induced lung fibroblast proliferation [J]. *Cell Mol Med*, 2013, 17 (1): 160-167.
- [23] Akgedik R, Akgedik S, Karamanli H, et al. Effect of resveratrol on treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. *Inflammation*, 2012, 35 (5): 1732-1741.
- [24] Sener G, Topaloglu N, Sehirci AO, et al. Resveratrol alleviates bleomycin-induced lung injury in rats [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2007, 20 (6): 642-649.
- [25] Romero Y, Bueno M, Ramirez R, et al. mTORC1 activation decreases autophagy in aging and idiopathic pulmonary fibrosis and contributes to apoptosis resistance in IPF fibroblasts [J]. *Aging Cell*, 2016, 15 (6): 1103-1112.
- [26] Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, et al. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities [J]. *Clin Invest*, 2013, 123 (3): 966-972.
- [27] Schafer MJ, White TA, Iijima K, et al. Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14532.
- [28] Tsitoura E, Vasarmidi E, Bibaki E, et al. Accumulation of damaged mitochondria in alveolar macrophages with reduced OXPHOS related gene expression in IPF [J]. *Respir Res*, 2019, 20 (1): 264.
- [29] Tsubouchi K, Araya J, Kuwano K. PINK1-PARK2-mediated mitophagy in COPD and IPF pathogenesis [J]. *Inflamm Regen*, 2018, 38: 18.
- [30] Jain M, Rivera S, Monclus EA, et al. Mitochondrial reactive oxygen species regulate transforming growth factor- $\beta$  signaling [J]. *Biol Chem*, 2013, 288 (2): 770-777.
- [31] Schuliga M, Pechkovsky DV, Read J, et al. Mitochondrial dysfunction contributes to the senescent phenotype of IPF lung fibroblasts [J]. *Cell Mol Med*, 2018, 22 (12): 5847-5861.
- [32] Cárdenas N, Álvarez D, Sellarés J, et al. Senescence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9 (1): 257.
- [33] Borok Z, Horie M, Flodby P, et al. Grp78 Loss in Epithelial Progenitors Reveals an Age-linked Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Pulmonary Fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 201 (2): 198-211.
- [34] Burman A, Tanjore H, Blackwell TS. Endoplasmic reticulum stress in pulmonary fibrosis [J]. *Matrix Biol*, 2018, 68-69: 355-365.
- [35] Thannickal VJ, Loyd JE. Idiopathic pulmonary fibrosis: a disorder of lung regeneration? [J]. 2008, 178 (7): 663-665.
- [36] Liu X, Wong SS, Taype CA, et al. Thy-1 interaction with Fas in lipid rafts regulates fibroblast apoptosis and lung injury resolution [J]. *Lab Invest*, 2017, 97 (3): 256-267.

(收稿日期: 2020-08-18)

(本文编辑: 周三凤)