·综述·

转化生长因子 β1 与骨骼肌纤维化病变研究进展

潘丹[1,2]　黄庆华[1]　陈大勇[1]　张志成[2,3]　孙天胜[2,3]
[1]中南大学湘雅医学院附属株洲医院脊柱外科,湖南省株洲市　412000;[2]南方医科大学第二临床学院,广东省广州市　510000;[3]中国人民解放军总医院第七医学中心骨科,北京市　100010
通信作者:潘丹,Email: pandan81@163.com

【摘要】 骨骼肌在创伤、失神经支配、营养障碍、老化等相关因素影响下,可出现纤维化,影响其再生和功能。转化生长因子 β1(TGF-β1)是 TGF-β 超家族成员之一,是调节细胞生长、促进组织纤维化的重要细胞因子。研究发现 TGF-β1 在骨骼肌纤维化病变中呈高表达性,在骨骼肌纤维化病变的发生发展过程中起重要作用。本文针对 TGF-β1 与骨骼肌纤维化病变的关系做一综述,并对临床应用前景做一展望,为进一步开展研究提供参考。

【关键词】 骨骼肌; 转化生长因子 β1; 纤维化; 综述
DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.02.021

骨骼肌在人体内分布极为广泛,约占体重的 40%[1]。骨骼肌极富弹性,它可以通过改变质量、功能和代谢状态以应对内源性和/或外源性刺激,从而维持稳态和整体健康。骨骼肌内稳态是通过精细调节分解代谢和合成代谢过程实现的。一些病理状态,如长期卧床、石膏固定、肌营养不良、糖尿病、癌症、肾脏和心脏疾病等,可破坏良好的内稳态,平衡转向分解代谢过程,蛋白质降解增加,骨骼肌质量下降并出现不同程度纤维化。研究表明,转化生长因子 β1(transforming growth factor β1, TGF-β1)在骨骼肌纤维化病变的发生发展中起着重要作用[2]。

TGF-β1 概述

TGF-β 是一种多肽信号分子,其超家族包括 50 多名成员,调控广泛的细胞功能,包括调节生长和维持内环境平衡[3]。TGF-β 能刺激成纤维细胞合成胶原和纤维连结蛋白,促使其在细胞外基质中沉积,并对炎性细胞和成纤维细胞具有强烈的趋化作用,增强局部的炎症反应。TGF-β 能加强失神经骨骼肌肌源性干细胞合成和分泌细胞外基质,促进失神经骨骼肌纤维化。

TGF-β1 是 TGF-β 超家族成员之一,是一种多功能细胞因子,基因定位于染色体 19q13 上,包含 7 个外显子和 6 个内含子,具有 9 个常见基因多态性位点。这种基因多态性影响 TGF-β1 的转录及表达。成熟的 TGF-β1 由 112 个氨基酸组成,2 条分子量均为 12.5 kD 的多肽链通过二硫键连接而成[4]。

TGF-β1 主要由骨髓基质的各类细胞合成和分泌,如 T 细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞和中性粒细胞等。原始的 TGF-β1 无活性,各种刺激导致组织微环境变化,原始的 TGF-β1 被活化,产生各种生物学活性[3]。活化的 TGF-β1 能调节细胞生长、分化、迁移、凋亡和分泌等活动,在机体正常的生理活动中有很重要的作用,而且还参与各种疾病的发生和发展,是强烈的致组织纤维化的细胞因子,在多种器官组织肥厚和纤维化疾病的发生发展过程中起重要作用[5-6]。

TGF-β1 与骨骼肌纤维化

骨骼肌纤维是单个细长的多核细胞,肌纤维平行排列,直径趋于一致,截面为多边形。骨骼肌纤维排列成束,被肌束膜间结缔组织分离。肌纤维核通常位于外周,肌膜下方。骨骼肌是动态平衡的,损伤后有再生能力。与正常肌肉相比,再生肌肉组织的特点为细胞核非外周分布,肌纤维直径不一。再生对修复损伤和恢复肌肉功能至关重要,然而,再生是有限制的且可能不足以完全恢复正常的肌肉结构。骨骼肌在创伤、退变、失神经支配等病理状态下均可出现不同程度纤维化,其特征是细胞外基质面积增加、胶原沉积增强、肌肉僵硬度增加以及肌肉挛缩,限制肌肉运动和功能[7]。

TGF-β1 是调控骨骼肌纤维化的核心分子,可以促使卫星细胞横向分化为肌成纤维细胞、成纤维细胞,促进细胞外基质中胶原过度合成,抑制肌肉的愈合[8]。体内试验研究表明,TGF-β1 激活增加导致骨骼肌细胞的前体细胞凋亡、肌内膜纤维化、肌肉萎缩、成肌细胞分化成纤维细胞[9]。

一、创伤

骨骼肌损伤后,肌细胞外基质发生去粘连、重建和强化,为清除坏死肌纤维及肌细胞再生提供适宜环境[10]。骨骼肌修复过程中,TGF-β1 可以抑制成肌细胞分化和融合,以及肌肉特异性蛋白的表达,还可以促进胶原的合成、成纤维细胞的增长和新生血管的形成[11]。

单次肌内或皮下注射给药,将 TGF-β1 注射到小鼠后肢会导致肌肉萎缩和纤维化表型。在一项研究中,肌肉注射 5 ng 的 TGF-β1 在 7 d 内导致炎症反应,在后来的某个时间点消失了;在第 2 项研究中,皮下注射 0.2 ng 的 TGF-β1 没有观察到炎症,提示炎症在第一项研究中发生可能是由 TGF-β1 和肌肉注射导致肌肉损伤共同存在而引起[11-12]。第一项研究还表明,TGF-β1 不仅能使肌肉组织中原有的成纤维细胞,而且能使肌源性细胞(包括肌纤维和成肌细胞)转变为肌成纤维细胞。TGF-β1 既可来自于浸润的炎性细胞(如单核巨噬细胞),也可来自于肌源性细胞以及骨髓源性干细胞。

通过对骨骼肌损伤后再生过程的研究,Smith 等[13]发现在骨骼肌牵拉和撕裂伤后 1~3 d,TGF-β1 的表达即显著上调。Mackey 等[14]研究发现,TGF-β1 和胶原纤维在损伤后第 7 天开

始升高,在第 14 天时达到最高峰,在第 21 天时开始逐渐下降。Liu 等[15]在肩袖损伤的大鼠模型中发现,肩袖肌肉纤维化程度与 TGF-β1 基因和蛋白表达显著相关,TGF-β1 在外伤肌组织细胞中可下调成肌蛋白表达并启动纤维化相关蛋白产物合成,TGF-β1 可启动骨骼肌纤维化并以级联形式促进、诱导肌纤维、成肌细胞向成纤维细胞分化,进一步突出了 TGF-β1 在骨骼肌创伤及修复中的重要作用。

二、失神经支配

长期的失神经支配,周围神经发生阶段性脱髓鞘改变及轴索变性,其支配的骨骼肌发生失神经改变,骨骼肌失去神经的营养作用和支配作用,肌细胞核数量逐渐减少。随着失神经支配时间的延长,肌纤维内的细胞核不断凋亡[16],肌细胞核数量不断减少,肌纤维不断萎缩,最终因为不能维持基本功能而转化为成纤维细胞。成纤维细胞增多引起失神经支配肌肉内的结缔组织增生,肌肉内毛细血管及其他小血管被多层的致密胶原围绕,使其与相邻肌纤维分离,潜在地影响血管床和肌纤维间的物质交换,也影响了再支配过程中神经轴突的长入和延伸,骨骼肌组织不可避免地出现萎缩纤维化。TGF-β1 参与失神经骨骼肌萎缩纤维化病变过程,是反映失神经骨骼肌纤维化病变程度的理想指标[17]。

贾中尉等[18]通过创建 SD 大鼠慢性坐骨神经卡压模型,分析坐骨神经支配的腓肠肌标本后发现,失神经支配的腓肠肌出现纤维化,腓肠肌组织中 TGF-β1 的表达显著上调,且长时间高表达,Ⅰ型胶原纤维的沉积与 TGF-β1 的表达有关。体外试验还发现,用 TGF-β1 刺激失神经骨骼肌肌源性干细胞后,细胞中Ⅰ和Ⅲ型胶原 mRNA 表达显著增强,Ⅰ和Ⅲ型胶原蛋白合成水平也明显增高。这说明 TGF-β1 能激活肌源性干细胞,改变其生物学活性,促进其大量合成和分泌胶原纤维,加强细胞外基质沉积和重塑,促进失神经骨骼肌纤维化。TGF-β1 和肌源性干细胞及其相互作用在失神经骨骼肌纤维化过程中起着非常重要的作用,也是探讨预防和治疗失神经肌萎缩的重要切入点[19]。

三、杜氏肌营养不良症

杜氏肌营养不良症是由肌营养不良蛋白基因突变引起的一种 X 染色体隐性遗传疾病,可导致严重的肌肉变性和结缔组织纤维化。虽然对杜氏肌营养不良症病理的认识已取得进展,但营养不良肌肉纤维化的病变机制仍在研究中。研究表明,在杜氏肌营养不良症患者血浆和肌肉中,TGF-β1 水平升高,TGF-β1 的表达与纤维化病变相关[20]。Song 等[21]研究发现,与对照组相比,杜氏肌营养不良症患者不仅肌细胞胞浆中 TGF-β1 的表达特异性上调,而且 TGF-β1 的表达水平与病变程度和临床表现显著相关。Andreetta 等[22]在杜氏肌营养不良的大鼠模型中发现 TGF-β1 表达水平与肌纤维化程度呈正相关,应用 TGF-β1 特异性抗体后纤维化程度减轻。Kharraz 等[23]认为,纤维化病变使杜氏肌营养不良症患者肌肉功能无法恢复,阻碍患者的康复过程,导致疾病进展。

四、年龄相关纤维化

有学者认为,TGF-β1 的表达水平与伴随老化过程出现的肌肉损伤和纤维化病变有一定关联。在正常老化过程中,肌细胞中 TGF-β1 表达水平升高,过渡到更加纤维化的表型。骨骼肌 TGF-β1 基因表达,老年人群高于年轻人群[24]。全球基因表达谱的结果表明,衰老肌肉 TGF-β1 基因编码表达增加。可能引起这种现象的原因包括:①TGF-β1 表达增加可能是年龄相关慢性炎症促使成纤维细胞活化的结果;②TGF-β1 表达增加可能反映出机体在试图修复累积的组织损伤[25]。

五、其它肌肉相关疾患

TGF-β1 分子还与其它几种疾患相关。马凡综合征患者血液循环中 TGF-β1 浓度较之健康个体升高[26]。早期研究评估肌萎缩侧索硬化症患者血清和脑脊液中 TGF-β1 浓度发现,终末期患者 TGF-β1 血清水平显著高于对照组,TGF-β1 脑脊液浓度与疾病持续时间呈显著正相关[27]。在肌肉样本,肌萎缩侧索硬化症患者 TGF-β1 浓度也高于对照组,浓度升高程度与患者肌肉力量呈负相关。疾病越进展,TGF-β1 浓度越高,提示 TGF-β1 可能是肌萎缩侧索硬化症在骨骼肌中的生物标志物[28]。在强直性脊柱炎患者椎旁肌中 TGF-β1 表达明显升高,促进椎旁肌的纤维化过程[29]。来自特发性脊柱侧凸患者椎旁肌研究的结果提示,与凸侧相比较,凹侧椎旁肌 TGF-β1 表达水平明显升高,提示 TGF-β1 作为一种致病因子或继发因素参与脊柱畸形病变。顶椎凹侧 TGF-β1 表达水平的升高可能与异常的生物力学,特别是压缩应力,导致细胞外基质的重建和代偿反应有关[30]。

临床治疗前景

肝、肾、肺等组织纤维化病变时,通过给予药物、细胞因子、受体拮抗剂、中和抗体等手段对 TGF-β1 的生成或作用进行干预后,可减轻组织的纤维化程度[6]。

随着对 TGF-β1 在肌肉疾患中作用的认识不断提高,如何中和甚至消除 TGF-β1 的不利影响引起了研究人员的广泛兴趣。抑制 TGF-β1 作用的策略包括阻断 TGF-β1 抗体[31]、激活肾素-血管紧张素系统中的不同成分[32]和抑制一些 TGF-β1 受体或者信号通路[33-34]。如潜在性 TGF-β 结合蛋白(latent TGF-βbinding proteins,LTBPs)是一种多 TGF-β 配体结合蛋白,肌肉中过度表达 LTBPs 可抑制 TGF-β1 生物学活性,增加肌肉力量,减少纤维化[31];血管紧张素-1~7,通过抑制 TGF-β1/Smad 信号通路,抑制活性氧自由基生成,减少肌肉萎缩[32];TGF-β 受体 1 激酶抑制剂 SB431542,能减少肌肉组织纤维化和脂肪浸润,维持肌肉质量[34]。

这些治疗方式的主要问题是缺乏特异性,可导致不良反应。如何提高肌肉再生能力,降低肌肉纤维化和萎缩,同时又不改变 TGF-β1 在其它组织中的正常功能,如调节增生、造血、迁移、炎症和神经保护等[35],是目前临床应用的主要挑战,仍需深入研究骨骼肌纤维化的机制,改善骨骼肌纤维化相关疾病预后。

参 考 文 献

[1] 于频.系统解剖学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2001:64.

[2] Guadagnin E, Narola J, Bönnemann CG, et al. Tyrosine 705 phosphorylation of STAT3 is associated with phenotype severity in TGFβ1 transgenic mice[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 843743. DOI: 10.1155/2015/843743.

[3] Ismaeel A, Kim JS, Kirk JS, et al. Role of transforming growth factor-β in skeletal muscle fibrosis: a review[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(10): 2446. DOI: 10.3390/ijms 20102446.

[4] Vieira de Castro J, Gonçalves CS, Costa S, et al. Impact of TGF-beta1-509C/T and 869T/C polymorphisms on glioma risk and patient prognosis[J]. Tumour Biol, 2015, 36(8): 6525-6532. DOI: 10.1007/

s13277-015-3343-0.

[5] 何作云,罗惠兰,冯兵.心脏超负荷时局部碱性成纤维细胞生长因子和转化生长因子 β1mRNA 及其蛋白表达水平的临床研究[J].中华物理医学与康复杂志,2000,22(6):330-332. DOI:10.3760/j:issn:0254-1424.2000.06.003.

[6] Jain M, Lam A, Gottardi CJ. Tissue-specific knockout/knockdown of type 2 TGF-beta receptor and protection against bleomycin injury/fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med,2017,184(8):983-984. DOI:10.1164/ajrccm.184.8.983.

[7] Gillies AR, Chapman MA, Bushong EA, et al. High resolution three-dimensional reconstruction of fibrotic skeletal muscle extracellular matrix[J]. J Physiol, 2017, 595(4): 1159-1171. DOI: 10.1113/JP273376.

[8] Li H, Hicks JJ, Wang L, et al. Customized platelet-rich plasma with transforming growth factor neutralization antibody to reduce fibrosis in skeletal muscle[J].Biomaterials,2016,87:147-156. DOI:10.1016/j.biomaterials.2016.02.017.

[9] Narola J, Pandey SN, Glick A, et al. Conditional expression of TGF-β1 in skeletal muscles causes endomysial fibrosis and myofibers atrophy[J].PloS One,2013,8(11):e79356. DOI:10.1371/journal.pone.0079356.

[10] Hyldahl RD, Nelson B, Xin L, et al. Extracellular matrix remodeling and its contribution to protective adaptation following lengthening contractions in human muscle[J]. FASEB J,2015,29(7):2894-2904. DOI:10.1096/fj.14-266668.

[11] Mendias CL, Gumucio JP, Davis ME, et al.Transforming growth factor-beta induces skeletal muscle atrophy and fibrosis through the induction of atrogin-1 and scleraxis[J]. Muscle Nerve,2012,45(1):55-59. DOI:10.1002/mus.22232.

[12] Li Y, Foster W, Deasy BM, et al. Transforming growth factor-beta1 induces the differentiation of myogenic cells into fibrotic cells in injured skeletal muscle: a key event in muscle fibrogenesis[J].Am J Pathol,2004,164(3):1007-1019. DOI:10.1016/s0002-9440(10)63188-4.

[13] Smith CA, Stauber F, Waters C, et aL.Transforming growth factor-B following skeletal muscle strain injury in rats[J].J Appl Physiol,2017,102(2):755-761. DOI:10.1152/japplphysiol.01503.2015.

[14] Mackey AL, Magnan M, Chazaud B, et al. Human skeletal muscle fibroblasts stimulate in vitro myogenesis and in vivo muscle regeneration[J]. J Physiol, 2017, 595(159): 5115-5127. DOI: 10.1113/JP273997.

[15] Liu X, Joshi SK, Ravishankar B, et al. Upregulation of transforming growth factor-beta signaling in a rat model of rotator cuff tears[J]. J Should Elb Surg, 2014, 23(11):1709-1716. DOI:10.1016/j.jse.2014.02.029.

[16] Rebolledo DL, González D, Faundez-Contreras J, et al.Denervation-induced skeletal muscle fibrosis is mediated by CTGF/CCN2 independently of TGF-β[J].Matrix Biol,2019,82:20-37. DOI:10.1016/j.matbio.2019.01.002.

[17] Abrigo J, Simon F, Cabrera D, et al.Central role of transforming growth factor type beta 1 in skeletal muscle dysfunctions[J].Curr Protein Pept Sci, 2018, 19(12): 1189-1200. DOI: 10.2174/1389203718666171117101916.

[18] 贾中尉,陈江海,陈燕花,等.TGF-β1 和 CTGF 在周围神经卡压后骨骼肌纤维化中的作用[J].中华显微外科杂志,2012,35(2):135-138. DOI:10.3760/cma.j.issn. 1001-2036.2012.02.017.

[19] 彭云龙,陈燕花,翁雨雄,等.转化生长因子-β1 促进失神经骨骼肌肌源性干细胞表达胶原纤维的研究[J].中华手外科杂志,2012,28(1):51-54. DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-054X.2012.01.022.

[20] Ceco E, McNally EM. Modifying muscular dystrophy through transforming growth factor-β[J].FEBS J,2013,280(17):4198-4209. DOI:10.1111/febs.12266.

[21] Song Y, Yao S, Liu Y, et al. Expression levels of TGF-beta1 and CTGF are associated with the severity of Duchenne muscular dystrophy[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(4): 1209-1214. DOI: 10.3892/etm.2017.4105.

[22] Andreetta F, Bernasconi P, Baggi F, et al. Immunomodulation of TGF-beta 1 in mdx mouse inhibits connective tissue proliferation in diaphragm but increases inflammatory response: implications for antifibrotic therapy[J]. J Neuroimmunol,2016,175(1-2):77-86. DOI:10.1016/j.jneuroim.2016.03.005.

[23] Kharraz Y, Guerra J, Pessina P, et al. Understanding the process of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy[J]. Biomed Res Int,2014,2014:965631.DOI:10.1155/2014/965631.

[24] Parker L, Marissa K, Rani C, et al.Age and sex differences in human skeletal muscle fibrosis markers and transforming growth factor-β signaling[J].Eur J Appl Physiol,2017,117(7):1463-1472. DOI:10.1007/s00421-017-3639-4.

[25] Zahn JM, Sonu R, Vogel H, et al. Transcriptional profiling of aging in human muscle reveals a common aging signature[J]. PLoS Genet,2016,2(7):e115. DOI:10.1371/journal.pgen.0020115.eor.

[26] Yu C, Jeremy RW. Angiotensin, transforming growth factor β and aortic dilatation in Marfan syndrome: Of mice and humans[J].Int J Cardiol Heart Vasc,2018,18:71-80.DOI:10.1016/j.ijcha.2018.02.009.

[27] Iłzecka J, Stelmasiak Z, Dobosz B. Transforming growth factor-β1 (TGF-β1) in patients with amyotrophic lateral sclerosis[J]. Cytokine,2002,20(5):239-243. DOI:10.1006/cyto.2002.2005.

[28] Si Y, Kim S, Cui XQ, et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) is a muscle biomarker of disease progression in ALS and correlates with Smad expression[J]. PLoS One,2015,10(9):e0138425. DOI:10.1371/journal.pone.0138425.

[29] 许红飞,初同伟,张超,等.转化生长因子 β1 在强直性脊柱炎患者黄韧带和椎旁肌中的表达[J].中国免疫学志,2013,29(4):344-346. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X. 2013.04.002.

[30] Nikolova S, Dikova M, Dikov D, et al.Positive association between TGFB1 gene and susceptibility to idiopathic scoliosis in Bulgarian population[J].Anal Cell Pathol,2018,2018:6836092. DOI:10.1155/2018/6836092.

[31] Lamar KM, Bogdanovich S, Gardner BB, et al. Overexpression of latent TGFβ binding protein 4 in muscle ameliorates muscular dystrophy through myostatin and TGFβ[J]. PLoS Genet, 2016, 12(5): e1006019. DOI:10.1371 /journal. pgen.1006019.

[32] Abrigo J, Simon F, Cabrera D, et al.Angiotensin-(1-7) prevents skeletal muscle atrophy induced by transforming growth factor type beta (TGF-β) via Mas receptor activation[J]. Cell Physiol Biochem,2016,40(1-2):27-38. DOI:10.1159/000452522.

[33] Lemos DR, Babaeijandaghi F, Low M, et al. Nilotinib reduces muscle fibrosis in chronic muscle injury by promoting TNF-mediated apoptosis of fibro/adipogenic progenitors[J]. Nat Med,2015,21(7):786-794. DOI:10.1038/nm.3869.

[34] Davies MR, Liu X, Lee L, et al. TGF-beta small molecule inhibitor SB431542 reduces rotator cuff muscle fibrosis and fatty infiltration by promoting fibro/adipogenic progenitor apoptosis[J]. PLoS One,2016,11(5):e0155486. DOI:10.1371/journal.pone.0155486.

[35] 陶维元,文芳,张鸿.脑性瘫痪患儿转化生长因子 β1 水平的变化及其临床意义[J].中华物理医学与康复杂志,2010,32(1):54-57. DOI:10.3760 /cma.j.issn. 0254-1424.2010.01.016.

(修回日期:2020-12-29)

(本文编辑:汪 玲)