·综 述·

肺泡Ⅱ型上皮细胞在特发性肺纤维化过程中的变化

李国杰[1,2]，邓轶方[1,2]，刘珉宇[1,2]*
（1. 中国医药工业研究总院创新药物与制药工艺国家重点实验室，上海 200437；
2. 上海市生物物质成药性评价技术服务平台，上海 200437）

摘要：肺泡Ⅱ型上皮细胞（alveolar type Ⅱ epithelial cells，AT2）作为肺泡上皮干细胞，具有很强的增殖及分化潜能，在维持肺稳态以及肺损伤修复过程中起着至关重要的作用。研究表明，当 AT2 正常功能遭到破坏，并演变为促纤维化表型时，就可能引起特发性肺纤维化（idiopathic pulmonary fibrosis）。作为位于黏膜表面的细胞，AT2 不可避免地暴露于环境压力之下，这种压力能够产生长期影响，最终促进纤维化的发展。同时，基因突变也可能导致 AT2 功能受损及肺纤维化的出现。此外，衰老也是增加 AT2 发生病理性变化的重要因素之一。该文讨论 AT2 的再生过程以及造成 AT2 衰老、凋亡、功能障碍的信号通路。

关键词：肺泡上皮细胞；肺纤维化；干细胞再生；细胞衰老；细胞凋亡
中图分类号：R563.9　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2024）11-1187-005
引用：李国杰, 邓轶方, 刘珉宇. 肺泡II型上皮细胞在特发性肺纤维化过程中的变化[J]. 世界临床药物, 2024, 45（11）: 1187-1191. DOI：10.13683/j.wph.2024.11.012

The changes of alveolar type Ⅱ epithelial cells in the process of idiopathic pulmonary fibrosis

LI Guojie[1,2], DENG Yifang[1,2], LIU Minyu[1,2]*
（*1. State Key Lab. of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China;*
2. Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Drug-ability Evaluation, Shanghai 200437, China）

Abstract: Alveolar type Ⅱ epithelial cells（AT2）, as alveolar epithelial stem cells, possess significant proliferative and differentiation potential, plays a crucial role in maintaining lung homeostasis and the repair of lung injury. Studies have shown that idiopathic pulmonary fibrosis would occur when the normal function of AT2 is disrupted and transforms into fibrosis-promoting phenotype. Being located on the mucosal surface, AT2 is inevitably exposed to environmental stress, which can have long-lasting effects and ultimately promote the development of fibrosis. At the same time, genetic mutations may also lead to impaired AT2 function and the occurrence of pulmonary fibrosis. Additionally, aging is also one of the significant factors that increase the pathological changes in AT2. The article discussed the regeneration process of AT2 and the pathways that lead to AT2 aging, apoptosis, and dysfunction.

Key words: alveolar epithelial cells; pulmonary fibrosis; stem cell regeneration; cellular senescence; apoptosis

收稿日期：2024-05-13
作者简介：李国杰，硕士研究生，研究方向：新药临床前药效评价及机制研究。
通信作者：刘珉宇，医学博士，研究员，研究方向：新药研发、新药成药性评价、新药临床前药效评价及机制研究。
基金项目：国家十三五“重大新药创制”科技重大专项项目（2019ZX09201001-004-004）

特发性肺纤维化（idiopathic pulmonary fibrosis，IPF）是一种原因不明，以弥漫性肺泡炎及肺泡结构紊乱最终导致肺间质纤维化为特征的疾病。IPF 的纤维化过程最初被认为由慢性炎症导致，随着研究的深入，对其发病机制的理解已经演变成遗传学、环境因素和肺泡上皮细胞慢性微损伤共同作用导致肺部修复过程不良，进而发展为纤维化。IPF 患者的中位生存期较短，一般不超过 4 年。IPF 患者表现为不明原因的运动性呼吸困难，伴有或不伴干咳。IPF 主要治疗目的为延缓疾病进展，改善患者生活质量。目前，临床上普遍采用抗纤维化药物来治疗 IPF，但还未有预防和治疗纤维化、改善纤维化各项异常指标的药物获批上市。本文讨论 IPF 发生过程中关键细胞肺泡Ⅱ型上皮细胞（alveolar type Ⅱ epithelial cells，AT2）的变化及其相关信号通路，为后续 IPF 治疗药物靶点的筛选及研发提供参考。

1 IPF

IPF 是一种慢性、进展性、间质性肺病，其特征为肺部间质的持续性瘢痕化，病理表现包括蜂窝状改变、牵引性支气管扩张和肺泡间隔的增厚。研究表明，IPF 自肺部底部及外围开始并逐渐波及整个肺组织[1]，是一个涉及多种细胞类型（如上皮细胞、成纤维细胞、免疫细胞及内皮细胞）复杂相互作用的动态过程[2—3]。研究证实肺泡上皮细胞中的 AT2 在 IPF 的发生过程中起核心作用[4]。IPF 的中位确诊年龄约为 66 岁，预期生存期从确诊起计算为 2 ～ 4 年[5]。吡非尼酮（pirfenidone）和尼达尼布（nintedanib）是目前被认可的能够延缓疾病进展的抗纤维化药物，也是美国食品及药物管理局批准用于治疗 IPF 的药物[6—7]。随着对间质性肺病认识的加深，新的抗纤维化药物正不断被开发，尽管如此，对于这一难以治愈的疾病，其治疗方法仍有待改进。

总之，AT2 损伤及功能障碍会导致肺组织间质纤维增生，肺功能逐渐丧失；AT2 缺失则会限制受损肺泡的修复能力。

2 AT2 再生过程

Wu 等[4]通过小鼠血系追踪实验证实，通过表面活性蛋白（surfactant protein，SFTP）C 定位的 AT2 能够长期自我更新和多能分化，可在肺泡稳态损伤后的修复过程中分化为肺泡Ⅰ型上皮细胞（alveolar type Ⅰ epithelial cells，AT1）。AT1 是一种大型鳞状细胞，可作为气血屏障的上皮组成部分发挥作用。

进一步结合单细胞 RNA 测序、体内谱系追踪及类器官模型等研究，AT2 在肺损伤修复和肺再生中的动态变化路径被成功描绘。Choi 等[8]研究发现，损伤相关瞬时祖细胞（damage associate transient progenitor cells，DATP）这一独特 AT2 系细胞群，其产生于肺泡再生过程中。肺泡受损后，AT2 首先进入激活状态，随后转化为 DATP，最终分化成 AT1。在此过程中，激活状态的 AT2 可分为 2 个亚群，即表达细胞周期标志物的循环 AT2（cycle AT2，cAT2），以及保留 cAT2 转录特征同时不表达细胞周期相关基因的潜在 AT2。

3 IPF 中的 AT2 衰老

反复微损伤导致的 AT2 耗尽是目前学界普遍接受的肺纤维化主要成因[9]。Xu 等[10]的研究亦显示，在 IPF 患者的肺组织中，AT2 数量显著少于健康人群，为上述观点提供支持。另有研究表明，AT2 耗竭不仅会损伤肺功能，也会导致肺纤维化的早期症状。遗传及环境因素造成的压力会损害 AT2 的增殖能力，从而导致上皮维护功能缺陷。在 IPF 病变组织的移植样本中，纤维化区域表现出 AT2 的局部耗尽以及与多个细胞衰老相关途径的异常激活[12]。然而，AT2 消耗的机制，尤其是其在 IPF 中的作用机制尚未完全阐明。

4 AT2 凋亡途径

4.1 内质网（endoplasmic reticulum，ER）应激导致 AT2 凋亡

细胞内各种应激及信号损伤会激活 B 细胞淋巴瘤（B-cell lymphom，BCL）-2 蛋白，从而导致线

粒体通透性增加，并进一步释放如细胞色素 C 等介质，进而促进凋亡体的形成，同时激活蛋白水解酶半胱氨酸蛋白酶，最终引发细胞凋亡。ER 应激是 AT2 通过内源性途径诱导凋亡的一个关键触发因素，与 IPF 发病机制密切相关。ER 是细胞内关键细胞器，其功能为促进蛋白质正确折叠、运输，以确保细胞所需蛋白质的质量。当 ER 的蛋白质折叠能力超负荷时，会激活未折叠蛋白反应（unfolded protein response，UPR），以恢复 ER 的正常功能。然而，UPR 激活持续时间过长或负荷过重会导致蛋白质稳态丧失、细胞功能障碍及凋亡[13]。Lawson 等[14]的研究表明，在肺纤维化发生过程中，AT2 中的 UPR 被激活，在博莱霉素（bleomycin）诱导的肺损伤模型小鼠中亦观察到 AT2 的 ER 应激；此外，即使在外观正常的 IPF 肺组织中亦能检测到 AT2 的 UPR 激活，提示 ER 应激可能在纤维化前已发生。

肺纤维化的遗传易感性与多种基因突变有关，而这些突变均可引发 ER 应激。已有研究显示，由 AT2 产生的 SFTP 病理改变可诱导 ER 应激，并加重肺纤维化[15]。转基因小鼠模型试验显示，特定的 *SFTPC* 基因突变（如 SFTPCL188Q）导致的 AT2 选择性过表达会强化 ER 应激；虽然模型小鼠未发生自发性肺纤维化，但其更易受到博莱霉素暴露以及由此引起的损伤性纤维化的影响[14]。此外，Katzen 等[16]研究发现，通过诱导 *SFTP*CC121G 突变可促 AT2 过表达，进而观察到明显的 ER 应激、AT2 凋亡及自发性肺纤维化的发生。

4.2 线粒体功能障碍导致 **AT2** 凋亡

在肺损伤及其修复过程中，AT2 由于高代谢需求而拥有最多的线粒体数量。与正常肺组织相比，IPF 中的 AT2 会积累更多的损伤线粒体及 ER 应激蛋白，提示线粒体功能障碍在肺纤维化发病机制中具有重要作用[17]。多项研究表明，AT2 中线粒体功能相关基因缺失会加剧博莱霉素诱导的肺纤维化或导致自发性肺纤维化[18—19]。同时，Kim 等[20]的研究表明，线粒体过氧化氢酶过表达小鼠 AT2 线粒体 DNA 损伤及细胞凋亡减少，并能有效避免石棉及博莱霉素诱导的肺纤维化损伤。

4.3 死亡受体通路激活导致 AT2 凋亡

死亡受体通路 Fas-Fas 配体通路的多个成分在 IPF 肺泡上皮细胞中表达增加，表明诱发细胞凋亡的信号增强。Kuwano 等[21]通过动物试验证实，阻断 Fas-Fas 配体信号转导能减轻肺纤维化；反之，激活该通路则会加剧肺纤维化。Fas 介导的细胞凋亡需通过 BCL-2 家族成员 BID 的裂解促使凋亡信号进入线粒体，从而增强凋亡信号[22]。*BID* 基因缺失小鼠对博莱霉素诱导的肺纤维化具有抵抗力，进一步验证 Fas-Fas 配体通路是肺纤维化早期阶段的关键启动因素之一[23]。

5 导致 AT2 功能障碍的信号通路

5.1 转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-β 通路

TGF-β 在组织损伤修复、维持组织稳态及慢性纤维化过程中均具有关键作用。其能促进成纤维细胞的募集、增殖和活化，刺激细胞产生对胶原蛋白、纤连蛋白及细胞外基质（extracellular matrix，ECM）组装必需的其他成分，还参与调控介导细胞与 ECM 黏附的整合素，进而促进上皮间质转化。此外，活化的成纤维细胞还能与上皮细胞、血管生成祖细胞及部分先天性和适应性免疫细胞之间建立旁分泌信号。

TGF-β 能进一步诱导高度收缩的肌成纤维细胞表型，表现为 α- 平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）上调。组织纤维化的标志是持续的慢性炎症、纤维状胶原蛋白及其他 ECM 成分的积累[24]。TGF-β 通过过度激活生理反应并引发进一步的上皮损伤及炎症来促进纤维化，在 IPF 组织中可观察到 α-SMA 水平明显升高。

5.2 Wnt/β- 连环蛋白通路

微阵列数据显示，Wnt/β- 连环蛋白信号通路受干扰是肺纤维化发生的关键途径之一[25]。Wnt 蛋白

是一类分泌型糖蛋白，在胚胎发育及组织再生中起重要作用，而其由包含 DNA 结合因子（即淋巴细胞增强因子 / 细胞因子）和 β- 连环蛋白的转录复合物所调控。尽管 Wnt/β- 连环蛋白信号转导在所有组织中均存在，但这一转录复合物激活基因的表达依赖于特定细胞类型及其所处环境。

Wnt 信号作为一种发育途径在成体 AT2 中被激活，促进其向 AT1 细胞转分化。然而，在 IPF 这一病理状态下，Wnt 信号的激活却会加重肺纤维化。在老年肺组织中，Wnt 信号的激活被发现会诱导细胞衰老；而在 IPF 患者的肺组织样本中，Wnt/β- 连环蛋白信号上调。因此，抑制 Wnt 信号转导可改善肺纤维化 [26]。

5.3 Hippo 通路

Hippo 信号主要通过 Yes 相关蛋白（Yes-associated protein，YAP）/TAZ 来传递。YAP/TAZ 与 Wnt/β- 连环蛋白所调控的生物过程存在重叠，且并非独立作用，而是相互作用，影响对方活性。TAZ 在胚胎发育过程中的上皮细胞表达，且对促 AT1 分化、分支形态生成及肺泡形成至关重要 [27]。事实上，在 IPF 患者的肺组织中，AT2 中的 Hippo 信号转导出现失调，导致细胞形态、增殖及迁移的改变，这一机制可能导致肺纤维化进展 [28]。

5.4 Notch 通路

Notch 通路是一种关键的发育调控机制，通过横向抑制方式调节细胞分化。当配体与 Notch 受体结合后，Notch 受体会被 γ- 分泌酶切割，释放出 Notch 细胞内域（Notch intracellular domain，NICD）。随后，NICD 迁移到细胞核内，促进靶基因转录。Notch 信号不仅在肺部远端发育中发挥多种作用，且其对 AT2 细胞与肌成纤维细胞的相互作用亦至关重要，在肺泡正常形成过程中必不可少 [29]。Notch 信号的持续激活会导致皮肤、肾脏和心脏等组织的纤维化，且在 IPF 患者肺部 AT2 中 Notch 信号同样处于激活状态 [30]。Vaughan 等 [31] 还发现，持续的 Notch 信号活化会抑制肺泡正常分化，导致损伤肺泡无法修复，进而形成蜂窝状结构，这与 IPF 中观察到的病理特征相符。故 AT2 中的 Notch 信号激活被认为会促进肺纤维化进展，而抑制 Notch 信号则有可能减轻肺纤维化 [32]。

6 结语

目前，众多研究已经明确指出，AT2 在 IPF 中扮演着关键的驱动角色，其中 AT2 缺失及其功能障碍在纤维化过程中具有至关重要的作用。近年，随着对 AT2 亚型的深入分类和研究，学界对这些细胞在肺部发育及损伤后修复作用机制的理解得到进一步加强。然而，对于不同因素引发的 IPF 以及影响 AT2 结构、功能的具体机制，目前仍不完全清楚，还需进一步探究。

参考文献：

[1] Martinez FJ, Collard HR, Pardo A, *et al*. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3(1): 17074.

[2] Hogan BLM, Barkauskas CE, Chapman HA, *et al*. Repair and regeneration of the respiratory system: complexity, plasticity, and mechanisms of lung stem cell function[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15(2): 123-138.

[3] Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis[J]. J Exp Med, 2011, 208(7): 1339-1350.

[4] Wu HJ, Yu YY, Huang HW, *et al*. Progressive pulmonary fibrosis is caused by elevated mechanical tension on alveolar stem cells[J]. Cell, 2021, 184(3): 845-846.

[5] Jr King TE, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Lancet, 2011, 378(9807): 1949-1961.

[6] Karimi-Shah BA, Chowdhury BA. Forced vital capacity in idiopathic pulmonary fibrosis – FDA review of pirfenidone and nintedanib[J]. N Eng J Med, 2015, 372(13): 1189-1191.

[7] 来志龙, 徐寒梅, 赵万洲, 等. 特发性肺纤维化相关信号通路及治疗药物研究进展[J]. 药学进展, 2022, 46(7): 535-544.

[8] Choi J, Park JE, Tsagkogeorga G, *et al*. Inflammatory signals induce AT2 cell-derived damage-associated transient progenitors that mediate alveolar regeneration[J]. Cell Stem

Cell, 2020, 27(3): 366-382.
[9] Noble PW, Barkauskas CE, Jiang DH. Pulmonary fibrosis: patterns and perpetrators[J]. J Clin Invest, 2012, 122(8): 2756-2762.
[10] Xu Y, Mizuno T, Sridharan A, *et al*. Single-cell RNA sequencing identifies diverse roles of epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. JCI Insight, 2016, 1(20): e90558.
[11] Liang JR, Zhang YL, Xie T, *et al*. Hyaluronan and TLR4 promote surfactant-protein-C-positive alveolar progenitor cell renewal and prevent severe pulmonary fibrosis in mice[J]. Nat Med, 2016, 22(11): 1285-1293.
[12] Yao CF, Guan XR, Carraro G, *et al*. Senescence of alveolar type 2 cells drives progressive pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 203(6): 707-717.
[13] Kropski JA, Blackwell TS. Endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of fibrotic disease[J]. J Clin Invest, 2018, 128(1): 64-73.
[14] Lawson WE, Cheng DS, Degryse AL, *et al*. Endoplasmic reticulum stress enhances fibrotic remodeling in the lungs[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(26): 10562-10567.
[15] Garcia CK. Insights from human genetic studies of lung and organ fibrosis[J]. J Clin Invest, 2018, 128(1): 36-44.
[16] Katzen J, Wagner BD, Venosa A, *et al*. An SFTPC BRICHOS mutant links epithelial ER stress and spontaneous lung fibrosis[J]. JCI Insight, 2019, 4(6): e126125.
[17] Patel AS, Song JW, Chu SG, *et al*. Epithelial cell mitochondrial dysfunction and PINK1 are induced by transforming growth factor-β_1 in pulmonary fibrosis[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121246.
[18] Dorn GW. Evolving concepts of mitochondrial dynamics[J]. Ann Rev Physiol, 2019, 81: 1-17.
[19] Chung KP, Hsu CL, Fan LC, *et al*. Mitofusins regulate lipid metabolism to mediate the development of lung fibrosis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3390.
[20] Kim SJ, Cheresh P, Jablonski RP, *et al*. Mitochondrial catalase overexpressed transgenic mice are protected against lung fibrosis in part via preventing alveolar epithelial cell mitochondrial DNA damage[J]. Free Radic Biol Med, 2016, 101: 482-490.
[21] Kuwano K, Hagimoto N, Kawasaki M, *et al*. Essential roles of the Fas-Fas ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis[J]. J Clin Invest, 1999, 104(1): 13-19.
[22] Schutze S, Tchikov V, Schneider-Brachert W. Regulation of TNFR1 and CD95 signalling by receptor compartmentalization[J]. Nat Rev Mole Cell Biol, 2008, 9(8): 655-662.
[23] Budinger GRS, Mutlu GM, Eisenbart J, *et al*. Proapoptotic BID is required for pulmonary fibrosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(12): 4604-4609.
[24] Massague J, Sheppard D. TGF-β signaling in health and disease[J]. Cell, 2023, 186(19): 4007-4037.
[25] Selman M, Pardo A, Kaminski N. Idiopathic pulmonary fibrosis: aberrant recapitulation of developmental programs?[J]. PLoS Med, 2008, 5(3): e62.
[26] Lam AP, Herazo-Maya JD, Sennello JA, *et al*. Wnt coreceptor Lrp5 is a driver of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2014, 190(2): 185-195.
[27] Azzolin L, Panciera T, Soligo S, *et al*. YAP/TAZ incorporation in the β-catenin destruction complex orchestrates the Wnt response[J]. Cell, 2014, 158(1): 157-170.
[28] Gokey JJ, Sridharan A, Xu Y, *et al*. Active epithelial Hippo signaling in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. JCI Insight, 2018, 3(6): e98738.
[29] Tsao PN, Matsuoka C, Wei SC, *et al*. Epithelial Notch signaling regulates lung alveolar morphogenesis and airway epithelial integrity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(29): 8242-8247.
[30] Kavian N, Servettaz A, Weill B, *et al*. New insights into the mechanism of notch signalling in fibrosis[J]. Open Rheumatol J, 2012, 6(1): 96-102.
[31] Vaughan AE, Brumwell AN, Xi Y, *et al*. Lineage-negative progenitors mobilize to regenerate lung epithelium after major injury[J]. Nature, 2015, 517(7536): 621-625.
[32] Wasnick R, Korfei M, Piskulak K, *et al*. Restored alveolar epithelial differentiation and reversed human lung fibrosis upon Notch inhibition[EB/OL]. [2024-03-20]. http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/580498.

（编辑：王 佳）