

· 综述 ·

## 细胞衰老与器官纤维化研究进展

单天姣, 孙 健, 梁海海\*

(哈尔滨医科大学药学院药理学教研室, 省部共建生物医药重点实验室培育基地,  
心血管药物研究教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081)

**摘要:** 器官纤维化是一种由组织器官为修复自身受损部位, 过度分泌细胞外基质蛋白并形成永久性瘢痕, 最终引发器官形变及功能衰竭的进行性疾病。细胞衰老意味着细胞周期进入稳定停滞状态, 衰老细胞虽然依然具有代谢能力, 但无法继续增殖, 其通过分泌炎症因子等方式促进细胞外基质蛋白过度分泌, 参与心肌纤维化、肺纤维化等多种纤维化疾病的发生发展。越来越多的研究表明, 器官纤维化疾病发病率和衰老细胞数量均随年龄增长而增加。本文主要总结了在各器官纤维化进程中, 细胞发生衰老的机制、衰老细胞对纤维化进程产生的影响以及目前针对细胞衰老的抗纤维化药物治疗研究进展。这些内容对于揭示纤维化疾病的发病机制及探寻新的抗纤维化治疗策略具有重要意义。

**关键词:** 细胞衰老; 心肌纤维化; 肺纤维化; 作用机制; 药物治疗

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)09-1531-07

## Progress in the study of association between cellular senescence and organ fibrosis

SHAN Tian-jiao, SUN Jian, LIANG Hai-hai\*

(Department of Pharmacology (State-Province Key Laboratory of Biomedicine-Pharmaceutics of China, Key Laboratory of Cardiovascular Research, Ministry of Education), College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

**Abstract:** Deformation or failure of organs is the final stage involving fibrosis, caused by fibrous scars composed of excess extracellular matrix proteins. Cellular senescence means a stable stagnation state with no proliferation, during which the senescent cells maintain biochemical metabolism but promote excessive expression of extracellular matrix proteins due to secreting inflammatory factors, which contribute to the development of various organ fibrosis including myocardial fibrosis, and pulmonary fibrosis. It has been shown that both the incidence of organ fibrosis and the number of senescent cells increase with age. This review mainly summarizes mechanisms of cellular senescence and its contribution to the process of various organ fibrosis. Current anti-fibrotic drug therapy focused on cellular senescence is discussed. Cellular senescence has profound implications in the pathogenesis of fibrotic diseases and provides a new target for new effective treatments.

**Key words:** cellular senescence; myocardial fibrosis; pulmonary fibrosis; mechanism; medication

纤维化疾病是一种以组织器官内纤维结缔组织增多, 实质细胞减少为主要病理特征的持续进展性疾病, 具有早期诊断困难、发病机制复杂、预后较差的特点。

受到损伤的组织通常会以分泌胶原的方式来愈合伤口, 但在严重或重复损伤, 以及伤口愈合反应失调的情况下, 包括胶原和纤维连接蛋白在内的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成分, 会在炎症或损伤的组织内或周围过度积聚, 并在组织器官上形成永久性瘢痕, 最终引发器官形变及功能衰竭<sup>[1]</sup>。多种器官疾病

收稿日期: 2019-01-03; 修回日期: 2019-02-08.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31671187).

\*通讯作者 Tel: 86-451-86671354, E-mail: lianghaihai@ems.hrbmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2019-0017

的相关损伤都会引发复杂的细胞和分子级联反应,并发展为纤维化疾病。

Rockey 等<sup>[2]</sup>总结了器官纤维形成的4个主要阶段,第一阶段为原发性器官损伤对纤维化进程的诱发过程,第二阶段为纤维化进程相关效应细胞的激活,第三阶段为细胞外基质的细微改变,第四阶段为细胞外基质的动态沉积(和纤维物质不充分的再吸收)。在二、三阶段发生的同时,第四阶段逐渐发生。四个阶段的不可逆性发展持续推进纤维化进程,终将导致器官结构破坏和功能减退,乃至器官衰竭。

细胞衰老意味着细胞周期出现稳定停滞,衰老细胞虽然能够继续存活,并具有代谢能力,但均丧失增殖能力并具有标志性表型变化。细胞衰老主要分为细胞复制性衰老和细胞过早性衰老两种。细胞复制性衰老是由细胞复制造成的端粒酶损伤引起的。作为染色体保护性末端的端粒,在细胞多次分裂增殖中不断缩短,当突破临界最小长度时,引发DNA损伤反应(DNA damage response, DDR),此时,DDR通过激活DNA损伤激酶ATM、ATR以及p53亚型的差异表达等方式引起短暂的增殖停滞,使细胞及时修复损伤,但如果DNA损伤超过其阈值,细胞则走向衰老或凋亡。细胞过早性衰老由应激、癌基因及肿瘤抑制因子丢失等因素诱导,该过程与端粒长度无关,主要由p53和p16<sup>INK4A</sup>-视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)通路进行调控<sup>[3]</sup>。

流行病学研究表明,纤维化疾病的进展与年龄高度相关,其发病率、死亡率均随患者年龄增长而增加,机体衰老导致的衰老细胞蓄积是纤维化发展的关键<sup>[4-7]</sup>。在年轻的机体中,受损细胞通过转向衰老的方式得以被免疫监控系统发现并由机体及时清除,从而维持正常的组织环境稳态。但随着机体的老化,受损细胞数目增加、免疫监测能力下降等因素导致衰老细胞的清除率降低,并在机体内蓄积,导致纤维化发生<sup>[8]</sup>。衰老细胞的最大特征是,在细胞周期停滞的同时分泌大量的介质,包括促炎细胞因子和金属蛋白酶,这些介质统称为衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)<sup>[9,10]</sup>。

纤维化作为大多数慢性炎症的病理结果,其发展进程很大程度上受到SASP的调控。一方面,SASP以募集大量炎性细胞到组织器官中的方式参与纤维化第二阶段中效应细胞的激活;另一方面,SASP通过刺激成纤维细胞和肌成纤维细胞的增殖或转化,促进细胞外基质蛋白合成,参与纤维化三、四阶段,导致器官纤维化疾病的发生。然而,不同器官中的细胞衰老机制及衰老细胞分泌的SASP有所差异,不可一概而论,而将衰老细胞作为纤维化疾病治疗靶点的思路为纤维化

治疗药物的研发打开了全新局面<sup>[9-11]</sup>。

目前,用于纤维化疾病的治疗手段十分有限,因此,本文总结并区分了各器官中细胞发生衰老的主要机制、衰老细胞在纤维化进程中的作用,以及治疗纤维化疾病的药物。本文内容有助于加深对于细胞衰老与纤维化疾病的关系的理解,可能对新型纤维化治疗药物的开发存在一定指导意义。

## 1 细胞衰老的检测方法

目前研究者主要从分子水平及细胞形态变化来鉴别衰老细胞:①分子水平标记衰老:通过p16<sup>INK4A</sup>-Rb和ARF-p53-p21途径累积衰老相关蛋白促进纤维化进程是细胞衰老的关键特征<sup>[12]</sup>;p53-p21<sup>WAF1</sup>和pRb-p16<sup>INK4a</sup>肿瘤抑制通路是执行和维持衰老的关键机制,并常伴有衰老相关 $\beta$ -半乳糖苷酶(senescence-associated  $\beta$ -galactosidase, SA- $\beta$ -Gal)活性增加,因此p53、p21、p16的mRNA表达水平和SA- $\beta$ -Gal活性的升高已经成为判断细胞衰老的独特标志<sup>[13]</sup>。②利用细胞形态变化标记衰老:结构畸变、形态扩大并趋向平坦,组织膜成分改变,溶酶体和线粒体聚集以及核变化<sup>[14,15]</sup>。

尽管衰老标记层出不穷,但鉴定衰老细胞仍有两个重要问题亟待解决。首先,不同种类和状态的细胞,可能具有不同的衰老相关分子特征和形态特征。其次,众多损伤刺激导致衰老细胞的表型呈现动态和高度异质性。衰老表型的复杂性和衰老程序的高度异质均给衰老标记的选择增加了难度,qRT-PCR、流式细胞术、使用组学技术量化各种大分子等,都是致力于将同一样本中多个标记的测量结合起来的常用技术<sup>[16]</sup>。

## 2 各器官中细胞衰老的发生机制及衰老细胞在纤维化进程中的作用

### 2.1 细胞衰老与特发性肺纤维化

特发性肺纤维化(idiopathic interstitial pulmonary fibrosis, IPF)被称为“不是癌症的癌症”,是间质性肺疾病中最为常见、严重的类型,其诊断后患者平均生存期仅为2.8年,常表现为干咳及进行性呼吸困难,最终导致呼吸功能衰竭。研究认为肺泡上皮II型细胞(AT II细胞)与肺成纤维细胞的衰老及其SASP在IPF发生发展中占有重要地位<sup>[17-24]</sup>。

**2.1.1 II型肺泡上皮细胞** 肺泡上皮是IPF组织损伤的始发部位,受损上皮细胞以转向衰老的方式阻止损伤细胞的错误复制。以AT II细胞为主要成分的衰老上皮细胞,通过分泌SASP促进相邻成纤维细胞和肌成纤维细胞分泌多余的ECM,导致胶原沉积和肺结构破坏,诱发了IPF病理进程<sup>[17]</sup>。

AT II细胞的衰老,一方面可能由高水平表达的纤溶酶原激活物抑制剂1(plasminogen activator inhibitor 1,

PAI-1, 也称 serpin1), 通过诱导激活 p53-p21-Rb 细胞周期抑制通路导致<sup>[18]</sup>; 另一方面, 端粒酶基因突变引发的端粒缩短, 也是 IPF 中 AT II 细胞衰老的驱动因素, 其中端粒酶复合体基因 Tert 和 Terc 突变在 8%~15% 的家族性 IPF 病例和 1%~3% 的散发性病例中发生<sup>[19-21]</sup>。Naikawadi 等<sup>[22]</sup>发现, 胶原表达细胞的端粒功能失调仅导致肺水肿发生, 明确了发生端粒功能障碍的 AT II 细胞, 是肺纤维化增加的关键原因。

此外, Disayabutr 等<sup>[23]</sup>认为, p53 激活后, 通过上调 miR-34 来下调细胞周期关键靶基因 (包括 E2F1、c-Myc 和 CCNE2) 的方式, 调控 IPF 患者 AT II 细胞衰老, 进而参与肺纤维化的发生。Tian 等<sup>[17]</sup>证明了 PTEN/NF- $\kappa$ B 通路通过调节 AT II 细胞衰老参与 IPF 进程。

Lehmann 等<sup>[24]</sup>认为, 由 SASP 组分 IL-6、IL-1 $\beta$ 、MMP-12 以及角质形成细胞生长因子等诱导的肺泡上皮细胞重编程, 是 IPF 发病机制中的关键环节, 并证明肺纤维化小鼠 AT II 细胞发生衰老并分泌了更高水平的 SASP, 其中, 胰岛素样生长因子结合蛋白 (insulin growth factor binding proteins, Igfbp)-3、-4、-7 以及基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-3、-12、-14 分泌升高最为显著。

**2.1.2 肺成纤维细胞** 代谢异常是导致肺成纤维细胞衰老及 SASP 分泌的核心因素, 其核心环节为线粒体功能障碍引发的内质网应激。应激状态下, 内质网启动了未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR), 导致蛋白质合成减少、内质网扩大和错误折叠蛋白质的输出<sup>[15,16]</sup>。端粒损耗或线粒体自噬调节基因失调可能是线粒体功能障碍的发生原因之一<sup>[14,25]</sup>。Romero 等<sup>[26]</sup>指出, 线粒体自噬活性降低 (可能由于 mTOR 活性抑制导致) 介导了 IPF 肺成纤维细胞老化及 IPF 的发生。

Alvarez 等<sup>[14]</sup>证明, 衰老 IPF 肺成纤维细胞的 SASP 组分 IL-6、IL-1 和 FGFb 分泌水平显著上升。Schafer 等<sup>[27]</sup>证明, IPF 患者和博来霉素损伤小鼠的肺成纤维细胞均发生衰老。在衰老肺成纤维细胞的分泌物中, 转化生长因子  $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、IL-6 和 MMP-12, 可能对临近细胞产生促进作用, 参与 IPF 中炎症反应的调控及纤维化进程, 通过靶向清除衰老细胞清除 SASP 信号则可抑制纤维化进程。

## 2.2 细胞衰老与肝纤维化

肝纤维化是一种由慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV)/丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染、酒精滥用、非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)/非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 等原因导致的进行性疾

病, 全球年死亡 100 万人。衰老的肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 和肝上皮细胞以及细胞间相互影响共同调控肝纤维化进程<sup>[28]</sup>。

**2.2.1 肝星状细胞** HSC 活化并转分化为分泌 ECM 组分的肌成纤维细胞, 是肝纤维化发生的主要驱动因素。HSC 的复制性衰老能够抑制肝纤维化病理进程, 可视为肝纤维化修复过程的重要组成部分<sup>[29,30]</sup>。受损上皮细胞产生的旁分泌信号、组织纤维化微环境等均可诱导 HSC 活化。而失调的细胞内信号传导、表观遗传变化和细胞应激反应则通过诱导 HSC 衰老、细胞凋亡和/或免疫细胞清除, 使 HSC 失活<sup>[28]</sup>。Yosef 等<sup>[31]</sup>发现, p21 通过抑制半胱天冬酶和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号维持衰老 HSC 的存活。

在炎症过程中, 部分免疫细胞通过干扰 HSC 衰老维持纤维化进程。诱导 *Mdr2*<sup>-/-</sup> 和  $\mu$ *MtMdr2*<sup>-/-</sup> 小鼠缺乏大量淋巴细胞, 可以促进其 HSC 衰老, 并通过抑制 ECM 沉积阻止肝纤维化进程。Faggioli 等<sup>[32]</sup>指出, 消除 CD20<sup>+</sup> B 细胞可能通过抑制 TNF $\alpha$ -NF- $\kappa$ B 轴活性诱导活化 HSC 发生衰老, 并阻碍肝纤维化发展。巨噬细胞通过旁分泌方式调节 HSC 的衰老情况, 并以此促进或抑制纤维化进程<sup>[28]</sup>。衰老的 HSC 还可能通过分泌 SASP 诱导天然杀伤 (natural killer cell, NK) 细胞通过 NKG2D 和 TNF 相关凋亡诱导配体依赖途径清除活化/活化后衰老的 HSC, 使肝脏恢复到短期受损前状态, 减少纤维化发生的可能。因此, 诱导 HSC 衰老和相关免疫细胞可能是肝纤维化的潜在治疗靶点<sup>[29,33,34]</sup>。

**2.2.2 肝上皮细胞** 肝上皮细胞由肝细胞和胆管细胞组成, 其衰老既通过影响 HSC 活化对肝纤维化起间接作用, 又可能对肝纤维化产生某些直接影响。

肝细胞的衰老已在多种慢性实质性肝脏疾病中得到证实。由复制性衰老造成的端粒磨损被认为是慢性肝病中肝细胞衰老的基础<sup>[35,36]</sup>, 端粒酶复合物 (端粒酶逆转录酶和端粒酶 RNA 组分) 的基因突变也已在肝硬化 (肝纤维化的终末期形式) 中得到证实。此外, 以氧化应激为代表的细胞应激可以通过端粒和非端粒 DNA 损伤的方式, 引起端粒依赖性和端粒非依赖性细胞衰老<sup>[29]</sup>。目前的研究对于衰老肝细胞在肝纤维化中作用的说法不一: 一种观点认为, 损伤的或由活化 HSC 诱导衰老的肝细胞分泌的 ECM 蛋白——富半胱氨酸蛋白 61 (cysteine-rich angiogenic inducer 61, Cyr61, 又名 CCN1), 可以通过 RAC-NOX1 依赖途径引发活化 HSC 转向衰老的方式阻止纤维化进程<sup>[37-39]</sup>; 但其他观点认为, 持续的外来刺激和免疫功能衰退导致衰老肝细胞累积, 衰老肝细胞通过分泌 SASP 触发胆管细胞

衰老和HSC的连续活化,促进肝纤维化进程<sup>[29]</sup>。

在慢性肝病的导管反应和原发性胆汁性肝硬化中,胆管细胞发生衰老并参与纤维化进程<sup>[40,41]</sup>。衰老胆管细胞持续分泌生长因子激活肝脏周围基质的成纤维细胞,驱动纤维化进程。随后,受损上皮细胞和活化成纤维细胞相互作用,导致特征性纤维化反应,并通过引起胆管狭窄和胆汁淤积进一步促进肝损伤。然而,胆管细胞衰老、HSC活化和胆道损伤三者之间是否存在因果关系还有待进一步研究<sup>[29]</sup>。Moncsek等<sup>[42]</sup>研究表明衰老的胆管细胞以血小板衍生生长因子(activated stromal fibroblast, PDGF)依赖性方式促进静止的间充质细胞活化,且活化成纤维细胞和衰老胆管细胞中的关键生存因子——Bcl-xL,在肝纤维化发病机制中占有重要地位。此外,Wan等<sup>[43]</sup>报告了P物质(substance P, SP)的致纤维化作用。由TAC1基因编码的SP在各种外周器官中表达,SP/神经激肽-1受体(neurokinin-1 receptor, NK-1R)信号轴通过减少HSC衰老、增强胆管细胞衰老促进纤维化发生。

### 2.3 细胞衰老与心脏纤维化

心脏衰老是一个复杂的病理生理过程,其伴有包括心脏重塑和功能障碍在内的一系列心血管事件,其中,心脏间质纤维化会降低心脏功能储备,并使心脏容易受到血液动力学的影响,是心脏重塑过程中的标志性事件。最近研究发现,衰老的心肌细胞与心肌成纤维细胞在心脏纤维化的调节中占有重要地位<sup>[44-47]</sup>。

**2.3.1 心肌细胞** Ock等<sup>[44]</sup>认为,心肌细胞衰老可能由IGF-1-IGF-1R-Akt(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,又称protein kinase B, PKB)途径介导,此外,胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R)可能是减轻心室肥大、间质纤维化和炎症等衰老相关心脏疾病的关键靶点。研究数据显示,特异性敲除老年雄性小鼠心肌细胞中的IGF-1R,可以明显减少IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6等促炎性细胞因子和NF- $\kappa$ B配体受体激活因子RANKL的表达。敲除心肌细胞组织蛋白酶K可改善老年小鼠表现出的心腔室增大、壁层加厚、肌细胞横截面积和纤维化程度增加等心脏功能障碍现象<sup>[45]</sup>。

**2.3.2 心肌成纤维细胞** 心脏成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CF)分化成为肌成纤维细胞,致使ECM过度沉积,促进心肌纤维化进程。研究认为,CF可能以自分泌方式分泌IGF-1促进胶原合成,以旁分泌信号促进心肌细胞肥大,并逐步发展为以收缩功能下降和间质纤维化增加为特征的病理状态。因此,干预CF的生长调节并诱导其早衰,可以作为心肌纤维化的潜在治疗靶点<sup>[44,46]</sup>。

Meyer等<sup>[47]</sup>证明,CF的衰老受到p53/p21和p16/

Rb途径或CCN1(可由心脏缺血再灌注损伤诱导产生)调控;消除Trp53/Cdkn2a基因或增加CCN1表达可减少横向主动脉狭窄(transverse aortic constriction, TAC)处理导致的纤维化加重和心脏功能损伤。Diez等<sup>[46]</sup>则发现,降低Akt-1激酶(也称PKB- $\alpha$ )表达水平可以抑制CF的PDGF-AA(成体CF的特异性促分裂原)依赖性细胞增殖,诱导CF发生衰老。

此外,CF衰老还可能由心脏的非CF细胞群通过细胞-细胞接触或旁分泌信号传导机制来调节。心脏微环境、微核糖核酸表达改变和CDKN2A位点去阻遏,均可能加速CF衰老进程<sup>[47]</sup>。

### 2.4 细胞衰老与肾纤维化

近年来,以肾小管间质纤维化(tubulointerstitial fibrosis, TIF)为最终表型的慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)的患病率逐年增加。TIF特征是肌成纤维细胞活化,毛细血管网络丧失,ECM和炎症细胞积聚。目前,透析或肾移植仍然是CKD患者的唯一治疗方案。最近研究发现,多种肾脏疾病和肾小管间质性肾炎中均伴有细胞衰老<sup>[12,48,49]</sup>,衰老肾小管细胞分泌SASP,导致上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),使得肾小管上皮基底膜受到破坏,细胞转变为重塑基质的肌成纤维细胞,介导ECM生成,从而引起TIF的发生<sup>[50]</sup>。

高葡萄糖体外诱导的人原代近端肾小管细胞(proximal tubular cells, PTCs)早衰和EMT,与腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK)/mTOR信号减弱有关<sup>[51]</sup>。Okada等<sup>[48]</sup>的研究也支持了衰老肾小管细胞分泌的SASP促进纤维化这一观点,他们证明,D-丝氨酸(一种新型尿毒症毒素)导致了以G<sub>2</sub>/M细胞周期停滞和SASP为标志的细胞衰老以及细胞凋亡增强,严重损伤体外人肾近端肾小管细胞。此外,GCN2(control nonderepressible 2)激活之后,D-丝氨酸可能诱导肾小管细胞上调促纤维化因子,促进TIF。Luo等<sup>[12]</sup>认为Wnt9a(wingless-type MMTV integration site 9a)的过度表达加剧了管状衰老,衰老的肾小管细胞和活化的成纤维细胞通过Wnt9a-TGF- $\beta$ 途径相互作用以加速肾纤维化发生。Wnt9a诱导衰老的肾小管细胞分泌SASP组分TGF- $\beta$ 1,其通过调节p15<sup>INK4B</sup>、p21和p18的旁分泌,来促进正常细胞衰老。此外,条件性敲除小鼠肾脏上皮细胞中的SALVADOR I(SAV1)将上调促纤维化基因表达,促进TIF发生。SAV1含有WW结构域的蛋白质,被鉴定为HIPPO信号传导途径(许多细胞类型依赖性功能传导通路)的核心组分之一。Leung等<sup>[49]</sup>证明,Sav1缺失通过激活信号传导及转录激活因子

Stat3 和诱导 SASP 产生, 促进纤维化发展。其他研究认为, 慢性 (老化) 蛋白质转谷氨酰胺酶 2 (transglutaminase 2, TG2) 和/或内皮抑素 (endostatin, EST) 的协同作用, 引起间质纤维化并增加了衰老细胞比例<sup>[52]</sup>。

### 3 细胞衰老与器官纤维化治疗

目前, 针对衰老细胞设计纤维化疾病治疗药物的思路, 主要从两个方面展开: ① 根据细胞衰老的发生机制, 及细胞衰老对纤维化进程的具体调节作用, 诱导或抑制细胞发生衰老; ② 消除衰老细胞产生的具有促进纤维化作用的 SASP。

从第一种设计思路出发, 部分研究通过使用组合化合物 (senolytics) 有针对性地去除衰老细胞, 限制了组织纤维化和炎症损伤的发生<sup>[24,27,53,54]</sup>, 然而, 这些药物具有内在毒性, 这可能会限制它们的临床应用。在肺纤维化治疗中, 溶解性药物组合——达沙替尼 (D) 和槲皮素 (Q) (一种酪氨酸激酶抑制剂和黄酮醇的组合, 简称 DQ), 不仅可使溶解处理的 AT II 细胞出现 caspase-3 凋亡裂解和 Annexin V 染色增加<sup>[24]</sup>, 还可以选择性杀死产生纤维分泌物的衰老成纤维细胞<sup>[27]</sup>。另外, 已有研究人员采用苯二酚药物靶向杀死衰老细胞的方式治疗肺纤维化<sup>[55]</sup>。Dong 等<sup>[51]</sup>证明了二甲双胍和白藜芦醇通过 AMPK/mTOR 信号通路, 抑制了衰老肾脏中的 PTC 的衰老和 EMT 进程, 可能成为肾小管间质纤维化的有效治疗方法。在肝纤维化治疗中, 寻找能够诱导 HSC 衰老或消除相关淋巴细胞, 从而抑制纤维化的 senolytics, 可能是未来的研究热点。

通过靶向抑制衰老相关基因, 减少组织中衰老细胞数量的思路正在逐步展开。敲除 *Wnt9a* 基因, 可以通过解除衰老小管细胞和活化的间质成纤维细胞间的相互作用, 来干预细胞衰老和肾纤维化<sup>[12]</sup>。Jiang 等<sup>[18]</sup>研究表明: 沉默 PAI-1 能够抑制衰老 AT II 细胞中 p53/p21/Rb 通路。Nayak 等<sup>[56]</sup>通过 Chk2 抑制 Twist1, 诱导 p53 缺陷型侵袭性的癌细胞早衰, 并防止其转移传播。此外, 需要特别指出的是, 虽然 HSC 的衰老有利于控制肝纤维化进程, 但也有研究发现, 抑制维持衰老 HSC 存活的 p21 基因, 减少衰老 HSC 在体内蓄积, 也可以减轻肝纤维化和胶原蛋白产生<sup>[31]</sup>。

纤维化疾病治疗药物的第二种设计思路, 是减少促进纤维化的 SASP。雷帕霉素 (一种 SASP 抑制剂) 具有减轻体内肺纤维化和肌成纤维细胞活化的效用<sup>[15]</sup>。DQ 在肺纤维化治疗中, 可减少 Mmp12、Serpine1 和 Spp1 等 SASP 因子, 进一步消耗 collagen 1a1、collagen 5a3 和纤连蛋白等 ECM 成分。值得注意的是, 在 DQ 溶解处理后, IL-6 蛋白分泌物 (SASP 的主要成分)、Wnt 诱导型信号蛋白 (Wisp) 1 (AT II 细胞衍生的纤维

化介质) 的转录以及分泌水平也显著减少<sup>[24]</sup>。目前, Yes 相关蛋白 1 (Yes-associated protein 1, YAP1) 抑制剂维替泊芬 (verteporfin, VP) 是 FDA 批准的药物, 用 VP 处理小鼠, 可抑制与活化衰老、SASP 和 Stat3 相关的基因, 并阻止肾纤维化的发展<sup>[49]</sup>。然而, SASP 抑制剂并不能特异性识别衰老细胞, 因而部分与 SASP 相关的积极程序不可避免地受到抑制。因此, 尽管药物靶向治疗为治疗纤维化疾病开辟了新的思路, 但进一步区分有益和有害的衰老程序, 阐明不同细胞类型的特定 SASP 组成将至关重要。

此外, 细胞衰老的辅助治疗手段也得到广泛关注。现阶段, 器官移植被认为是终末期纤维化疾病的唯一治疗手段。将合适的生物学支架与可以重新填充天然器官基质的多潜能细胞群组合在一起的构想, 为器官再生增添了可能性。脱细胞化过程旨在保留重要的 ECM 成分以支持再细胞化, 同时最大限度地去除免疫原性细胞物质。为此, 已经开发了几种方法来使器官和组织脱细胞化, 保持 ECM 完整以供器官再生使用<sup>[57]</sup>。

### 4 小结与展望

在多种器官中, 衰老细胞的数量随着年龄增长而增加<sup>[30]</sup>, 细胞衰老已被证实参与器官纤维化疾病的发生发展。目前, 有关衰老细胞在器官纤维化疾病发生和发展中所发挥作用的研究成果复杂而且散碎, 缺乏系统、网络性的总结叙述。一些研究提示细胞衰老促进纤维化疾病发展, 而另一些研究则报道相关细胞衰老解除了器官纤维化负担, 这可能是由于器官异质性、不同种群细胞的功能差异及相互作用、生长因子和细胞因子对细胞衰老调控信号的网络性及细胞微环境的潜在作用所导致。同时, 研究中涉及到的在细胞水平上和利用动物模型展开的实验, 均无法对人体进行完全模拟, 这也使得现有机制研究成果存在较大争议。

但从衰老细胞的角度展开对器官纤维化这种起病隐匿、病因复杂且呈不可逆性演变的疾病的机制和治疗研究, 是一种必然性趋势。因此, 本文总结了当前各器官中指定衰老细胞群在器官纤维化进程中的部分作用机制, 这些内容将对器官纤维化发病机制研究及其靶向治疗提供有效的支持和依据。

### References

- [1] Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease [J]. Nat Med, 2012, 18: 1028-1040.
- [2] Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis--a common pathway to organ injury and failure [J]. New Engl J Med, 2015, 372: 1138-

- 1149.
- [3] Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, et al. The essence of senescence [J]. *Genes Dev*, 2010, 24: 2463-2479.
- [4] Ley B, Collard H. Epidemiology of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Clin Epidemiol*, 2013, 5: 483-492.
- [5] Desai A, Fang JC. Heart failure with preserved ejection fraction: hypertension, diabetes, obesity/sleep apnea, and hypertrophic and infiltrative cardiomyopathy [J]. *Heart Fail Clin*, 2008, 4: 87-97.
- [6] Dzeshka MS, Shahid F, Shantsila A, et al. Hypertension and atrial fibrillation: an intimate association of epidemiology, pathophysiology, and outcomes [J]. *Am J Hypertens*, 2017, 30: 733-755.
- [7] Coresh J, Astor BC, Greene T, et al. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: third national health and nutrition examination survey [J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 41: 1-12.
- [8] Lópezotín C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging [J]. *Cell*, 2013, 153: 1194-1217.
- [9] Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: from physiology to pathology [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014; 15: 482-496.
- [10] Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, et al. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression [J]. *Annu Rev Pathol*, 2010, 5: 99-118.
- [11] Schafer MJ, Haak AJ, Tschumperlin DJ, et al. Targeting senescent cells in fibrosis: pathology, paradox, and practical considerations [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2018, 20: 3.
- [12] Luo C, Zhou S, Zhou Z, et al. Wnt9a promotes renal fibrosis by accelerating cellular senescence in tubular epithelial cells [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29: 1238-1256.
- [13] Yang H, Wang H, Ren J, et al. cGAS is essential for cellular senescence [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: E4612.
- [14] Alvarez D, Cardenas N, Sellares J, et al. IPF lung fibroblasts have a senescent phenotype [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313: L1164-L1173.
- [15] Mora AL, Bueno M, Rojas M. Mitochondria in the spotlight of aging and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127: 405-414.
- [16] Hernandezsegura A, Nehme J, Demaria M. Hallmarks of cellular senescence [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28: 436-453.
- [17] Tian YQ, Li H, Qiu T, et al. Loss of PTEN induces lung fibrosis via alveolar epithelial cell senescence depending on NF- $\kappa$ B activation [J]. *Aging Cell*, 2019, 18: e12858.
- [18] Jiang C, Gang L, Luckhardt T, et al. Serpine 1 induces alveolar type II cell senescence through activating p53-p21-Rb pathway in fibrotic lung disease [J]. *Aging Cell*, 2017, 16: 1114.
- [19] Alder JK, Chen JL, Lancaster L, et al. Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 13051-13056.
- [20] Armanios M. Telomeres and age-related disease: how telomere biology informs clinical paradigms [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123: 996-1002.
- [21] Armanios MY, Chen JLL, Cogan JD, et al. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356: 1317-1326.
- [22] Naikawadi RP, Disayabutr S, Mallavia B, et al. Telomere dysfunction in alveolar epithelial cells causes lung remodeling and fibrosis [J]. *JCI Insight*, 2016, 1: e86704.
- [23] Disayabutr S, Kim EK, Cha SI, et al. miR-34 miRNAs regulate cellular senescence in type II alveolar epithelial cells of patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0158367.
- [24] Lehmann M, Korfei M, Mutze K, et al. Senolytic drugs target alveolar epithelial cell function and attenuate experimental lung fibrosis *ex vivo* [J]. *Eur Respir J*, 2017, 50: 1602367.
- [25] Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI3K and mTOR signalling controls tumour cell growth [J]. *Nature*, 2006, 441: 424-430.
- [26] 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: 1103-1112.
- [27] Schafer MJ, White TA, Iijima K, et al. Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14532.
- [28] Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 121: 27-42.
- [29] Aravinthan AD, Alexander GJ. Senescence in chronic liver disease: is the future in aging? [J]. *J Hepatol*, 2016, 65: 825-834.
- [30] O'Hara SP, Larusso NF. Cellular senescence, neuropeptides and hepatic fibrosis: additional insights into increasing complexity [J]. *Hepatology*, 2017, 66: 318-320.
- [31] Yosef R, Pilpel N, Papisov N, et al. p21 maintains senescent cell viability under persistent DNA damage response by restraining JNK and caspase signaling [J]. *EMBO J*, 2017, 36: 2280-2295.
- [32] Faggioli F, Palagano E, Tommaso LD, et al. B lymphocytes limit senescence-driven fibrosis resolution and favor hepatocarcinogenesis in mouse liver injury [J]. *Hepatology*, 2017, 67: 1970-1985.
- [33] Radaeva S, Sun R, Jaruga B, et al. Natural killer cells ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130: 435-452.
- [34] Kong X, Feng D, Wang H, et al. Interleukin-22 induces hepatic stellate cell senescence and restricts liver fibrosis in mice [J]. *Hepatology*, 2012, 56: 1150-1159.
- [35] Sekoguchi S, Nakajima T, Moriguchi M, et al. Role of cell-cycle turnover and oxidative stress in telomere shortening and cellular senescence in patients with chronic hepatitis C [J]. *J Gastroenterol*

- Hepatology, 2007, 22: 182-190.
- [36] Paradis V, Youssef N, Dargère Delphine, et al. Replicative senescence in normal liver, chronic hepatitis C, and hepatocellular carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2001, 32: 327-332.
- [37] Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, et al. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis [J]. *Cell*, 2008, 134: 657-667.
- [38] Lau LF. CCN1/CYR61: the very model of a modern matricellular protein [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68: 3149-3163.
- [39] Kim KH, Chen CC, Monzon RI, et al. The matricellular protein CCN1 promotes regression of liver fibrosis through induction of cellular senescence in hepatic myofibroblasts [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 2078-2090.
- [40] Sasaki M, Ikeda H, Yamaguchi J, et al. Bile ductular cells undergoing cellular senescence increase in chronic liver diseases along with fibrous progression [J]. *Am J Clin Pathol*, 2010, 133: 212-223.
- [41] Sasaki M, Ikeda H, Sato Y, et al. Decreased expression of Bmi1 is closely associated with cellular senescence in small bile ducts in primary biliary cirrhosis [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169: 831-845.
- [42] Moncsek A, Alsuraih MS, Trussoni CE, et al. Targeting senescent cholangiocytes and activated fibroblasts with Bcl-xL inhibitors ameliorates fibrosis in *Mdr2<sup>-/-</sup>* mice [J]. *Hepatology*, 2018, 67: 247-259.
- [43] Wan Y, Meng F, Wu N, et al. Substance P increases liver fibrosis by differential changes in senescence of cholangiocytes and hepatic stellate cells [J]. *Hepatology*, 2017, 66: 528-541.
- [44] Ock S, Lee WS, Ahn J, et al. Deletion of IGF-1 receptors in cardiomyocytes attenuates cardiac aging in male mice [J]. *Endocrinology*, 2016, 157: 336-345.
- [45] Hua Y, Robinson TJ, Cao Y, et al. Cathepsin K knockout alleviates aging-induced cardiac dysfunction [J]. *Aging Cell*, 2015, 14: 345-351.
- [46] Diez C, Nestler M, Friedrich U, et al. Down-regulation of Akt/PKB in senescent cardiac fibroblasts impairs PDGF-induced cell proliferation [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 49: 731-740.
- [47] Meyer K, Hodwin B, Ramanujam D, et al. Essential role for premature senescence of myofibroblasts in myocardial fibrosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67: 2018-2028.
- [48] Okada A, Nangaku M, Jao TM, et al. D-Serine, a novel uremic toxin, induces senescence in human renal tubular cells *via* GCN2 activation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 11168.
- [49] Leung JY, Wilson HL, Voltzke KJ, et al. Sav1 loss induces senescence and Stat3 activation coinciding with tubulointerstitial fibrosis [J]. *Mol Cell Biol*, 2017, 37: e00565-16.
- [50] Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 212-222.
- [51] Dong D, Cai GY, Ning YC, et al. Alleviation of senescence and epithelial-mesenchymal transition in aging kidney by short-term caloric restriction and caloric restriction mimetics *via* modulation of AMPK/mTOR signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 16109-16121.
- [52] Chi HSL, Chen J, Zhang Z, et al. Endostatin and transglutaminase 2 are involved in fibrosis of the aging kidney [J]. *Kidney Int*, 2016, 89: 1281-1292.
- [53] Mario C, Gakriella MM, Paola R, et al. Senolytic drugs in respiratory medicine: is it an appropriate therapeutic approach? [J]. *Exp Opin Invest Drugs*, 2018, 27: 573-581.
- [54] Justice JN, Nambiar AM, Tehkonia T, et al. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: results from a first-in-human, open-label, pilot study [J]. *EBioMedicine*, 2019. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.12.052.
- [55] Kirkland JL, Tehkonia T. Clinical strategies and animal models for developing senolytic agents [J]. *Exp Gerontol*, 2015, 68: 19-25.
- [56] Nayak D, Kumar A, Chakraborty S, et al. Inhibition of Twist1-mediated invasion by Chk2 promotes premature senescence in p53-defective cancer cells [J]. *Cell Death Diff*, 2017, 24: 1275-1287.
- [57] Gilpin SE, Li Q, Evangelistaleite D, et al. Fibrillin-2 and tenascin-C bridge the age gap in lung epithelial regeneration [J]. *Biomaterials*, 2017, 140: 212-219.