

# $\gamma$ 干扰素治疗病理性瘢痕研究进展

刘佳琦 胡大海

病理性瘢痕继发于组织创伤,是组织修复愈合的产物,其临床治疗措施有药物治疗、手术治疗、压力疗法、局部激素注射等。干扰素(IFN)是近年来应用逐渐增多的细胞因子类药物,包括 $\alpha$ 、 $\beta$ 和 $\gamma$ 3种类型,本文主要对IFN- $\gamma$ 治疗病理性瘢痕的研究进行综述。

## 1 IFN- $\gamma$ 的基本情况

IFN- $\gamma$ 基因位于12号染色体,包括4个外显子、3个内含子,由166个氨基酸组成,其中包括20个氨基酸的信号肽<sup>[1]</sup>。活化的T淋巴细胞、自然杀伤细胞均可产生IFN- $\gamma$ ,它具有抗病毒、抗感染及免疫调节的作用。研究表明,IFN- $\gamma$ 用于病理性瘢痕、肝纤维化、肺纤维化的治疗均已获得肯定疗效<sup>[2-4]</sup>。

## 2 病理性瘢痕的形成机制

病理性瘢痕的形成机制是目前研究的热点问题,包括遗传因素、增殖细胞凋亡、胶原代谢紊乱、细胞因子作用等。

病理性瘢痕特别是瘢痕疙瘩的发生有明显的种族差异。流行病学调查表明,瘢痕疙瘩可发生于所有种族的人群,但黑种人和黄种人较白种人的发病率高<sup>[5]</sup>。瘢痕疙瘩的发生具有明显家族遗传倾向,目前研究认为,其遗传模式符合常染色体显性遗传伴不完全外显<sup>[6]</sup>。

瘢痕外周与中心部位的成纤维细胞相比,前者处于增殖期(S期和G<sub>2</sub>期)的数量偏多,而后者更多处于G<sub>0</sub>期和G<sub>1</sub>期,且p53表达量较高<sup>[7]</sup>。相关基因研究表明,瘢痕疙瘩中p53、Fas基因都存在外显子的突变,从而导致成纤维细胞凋亡障碍<sup>[8-9]</sup>。

病理性瘢痕的形成是创面愈合过程中胶原合成、降解失调以及胶原过度沉积的结果。其特点是I、III型胶原增生(以I型胶原大量增生为主),从而导致I/III型胶原比例严重失调。研究表明,瘢痕中胶原合成关键酶氨基酰基脯氨酸二肽酶的活性是正常皮肤的4倍,胶原合成指数PINP/ICTP(PINP:I

型胶原前肽氨基末端,是胶原合成产物;ICTP:I型胶原尾肽碳末端,是胶原降解产物)也升高<sup>[10]</sup>。同时,尽管瘢痕中基质金属蛋白酶1(MMP-1)的表达量增高,但其抑制物——金属蛋白酶组织抑制物1(TIMP-1)表达量也增高,与前者以1:1的比例结合,抑制其降解胶原的活性<sup>[11]</sup>。以上几种因素共同作用导致了胶原的异常增生。

在瘢痕形成的过程中,细胞因子起着非常重要的作用,其中以转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )最为关键。TGF- $\beta$ 主要通过TGF- $\beta$ /Smad通路促进瘢痕组织成纤维细胞增殖,增加胶原合成,促进成纤维细胞向肌成纤维细胞转化;还可激活下游细胞因子如结缔组织生长因子(CTGF)<sup>[12-13]</sup>。研究表明,与正常组织相比,瘢痕组织表达更多的TGF- $\beta$ 及其受体,且瘢痕疙瘩TGF- $\beta$ I型受体/II型受体的比值显著高于增生性瘢痕和正常组织<sup>[14-15]</sup>。

## 3 IFN- $\gamma$ 治疗病理性瘢痕

### 3.1 在体研究

Pittet等<sup>[16]</sup>使用重组人IFN- $\gamma$ 对7例增生性瘢痕患者和7例Dupuytren患者进行注射治疗,每次200 $\mu$ g,每周2次,持续4周,并随访12周。结果显示,增生性瘢痕患者的瘢痕明显减小,瘙痒和感觉异常等症状均显著减轻。培养瘢痕成纤维细胞后给予IFN- $\gamma$ 干预,细胞增殖受到抑制, $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)的表达减少。上述患者有7例在第2、3次注射后6~48h出现流感样症状,包括体温升高、头痛、肌肉痛,但血清学和尿液检验未见异常。

Cornelissen等<sup>[17]</sup>对颞部创面局部注射IFN- $\gamma$ ,结果显示它可加快创面的再上皮化,减少创面肌成纤维细胞数量和 $\alpha$ -SMA的表达量,降低创面I、III型胶原含量。杨勇等<sup>[2]</sup>应用重组人IFN- $\gamma$ 治疗不同时期的增生性瘢痕患者48例,通过对观察指标评分比较后认为,在创面愈合后早期局部注射IFN- $\gamma$ ,对增生性瘢痕有一定的疗效,但其中23例患者注射后2h内出现发热、头昏反应,约1h后消失。

### 3.2 机制研究

研究表明,IFN- $\gamma$ 可以抑制瘢痕组织成纤维细胞的增殖,促进其凋亡;可以抑制成纤维细胞的胶原

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院烧伤与皮肤外科

合成,增加 MMP-1 的表达、降低 TIMP-1 启动子活性从而减少其表达<sup>[18]</sup>。IFN- $\gamma$  不但可以拮抗 TGF- $\beta_1$  诱导的成纤维细胞向肌成纤维细胞转分化,还可降低已发生转分化的肌成纤维细胞  $\alpha$ -SMA 的表达量,减少  $\alpha$ -SMA 阳性细胞数量<sup>[19-21]</sup>。同时,IFN- $\gamma$  信号通路和 TGF- $\beta_1$ /Smad 通路存在“串话”(crosstalk),并以此对后者产生抑制作用。

**3.2.1 阻碍 Smad-p300 复合物形成** Ghosh 等<sup>[22]</sup>的研究表明,IFN- $\gamma$  可抑制 TGF- $\beta_1$ /Smad 介导的 I 型胶原表达,该作用是通过其下游的信号分子——信号转导和转录激活因子 1 $\alpha$  (STAT1 $\alpha$ ) 与 TGF- $\beta$ /Smad 通路中的 Smad 3 在细胞核内竞争结合转录共同激活因子 p300/CBP [环腺苷一磷酸 (cAMP) response element-Binding Protein, 即 cAMP 效应元件结合蛋白] 来实现的。已知在细胞核中, p300/CBP 的数量有限,是很多转录因子转录的限速点。研究还表明, p300/CBP 过表达后, IFN- $\gamma$  抑制胶原合成的作用明显减弱,进一步确定 STAT1 $\alpha$  是通过竞争结合 p300/CBP 发挥拮抗 TGF- $\beta$  的作用。Higashi 等<sup>[23]</sup>认为, IFN- $\gamma$  可以通过 YB-1 蛋白来阻碍 TGF- $\beta$ /Smad 通路介导的 I 型胶原合成,具体机制是 YB-1 可以结合至 Smad 3 的 MH1 结构域,或结合 p300/CBP 阻碍 Smad 3-p300 复合物的形成。

**3.2.2 调节 Smad 蛋白表达** 研究表明, 瘢痕组织中负性 Smad 蛋白即 Smad 7 表达下降是瘢痕形成的重要原因<sup>[24]</sup>。而 Smad 7 的过表达可以抑制增生性瘢痕成纤维细胞中胶原的收缩,同时降低其 I 型胶原合成及  $\alpha$ -SMA 的表达<sup>[25]</sup>。Ishida 等<sup>[26]</sup>通过研究 IFN- $\gamma$  基因敲除小鼠观察到,创面愈合过程中 TGF- $\beta_1$ 、Smad 2 的含量明显增加,而 Smad 7 的含量下降,据此认为 IFN- $\gamma$  和 TGF- $\beta_1$  信号通路间存在“串话”。目前研究已经证实,在气管上皮细胞、肝星状细胞、肾系膜细胞中, IFN- $\gamma$  均可上调 Smad 7 的表达。Weng 等<sup>[27]</sup>的研究显示, IFN- $\gamma$  可以提高 Smad 7 的启动子活性,并通过增加 STAT1 $\alpha$  磷酸化来上调 Smad 7 的表达,呈剂量依赖效应;同时, IFN- $\gamma$  还可以减少 Smad 2 和 Smad 3 表达并抑制其激活。Dooley 等<sup>[28]</sup>的研究表明, IFN- $\gamma$  通过 Janus 激酶/STAT1 $\alpha$  依赖途径活化 YB-1 蛋白,增加其核转位,进而上调 Smad 7 的表达。

**3.2.3 阻碍 TGF- $\beta_1$  的自分泌作用** 一般情况下,血小板是 TGF- $\beta_1$  的主要来源,由血小板脱颗粒释放。但在瘢痕组织中,活化的成纤维细胞存在 TGF- $\beta_1$  的自身放大机制,即 TGF- $\beta_1$  可以促进自身

的表达上调。Tredget 等<sup>[29]</sup>通过对来源于增生性瘢痕和正常皮肤成纤维细胞的研究观察到, IFN- $\gamma$  可以拮抗 TGF- $\beta_1$  的自分泌作用,使其 mRNA 和蛋白表达水平均有所下降。除上调自身表达外, TGF- $\beta_1$  还可以激活 CTGF 等下游细胞因子发挥纤维化作用。Sobral 等<sup>[19]</sup>证明, IFN- $\gamma$  作用肌成纤维细胞 4 h 后, CTGF 的表达量开始下降,但并未观察到 TGF- $\beta_1$  表达量的变化。Fitzner 等<sup>[30]</sup>对胰腺星状细胞的研究表明, IFN- $\gamma$  可以通过 STAT1 $\alpha$  降低 CTGF 的启动子活性,减少其表达,从而拮抗 TGF- $\beta_1$ 。

#### 4 问题及展望

目前 IFN- $\gamma$  已应用于病理性瘢痕、纤维化疾病的治疗,其相关机制的分子生物学研究亦取得了一定的进展,但仍存在一些不足:(1) IFN- $\gamma$  会引起一些不良反应,如发热、头痛、头昏、咳嗽、肌肉痛等流感样症状。(2) IFN- $\gamma$  的一些作用仍未在瘢痕组织来源的成纤维细胞及瘢痕动物模型上得到进一步证实。(3) TGF- $\beta$  的信号转导还存在其他通路如丝裂原活化蛋白激酶信号通路, IFN- $\gamma$  对这些通路的作用亦不清楚。以上几个方面均有待进一步研究。相信随着研究的不断深入, IFN- $\gamma$  的临床应用方式将不断优化,其应用前景会更加广阔。

#### 参考文献

- [1] Gray PW, Goeddel DV. Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, 1982, 298(5877): 859-863.
- [2] 杨勇, 潘亚菊, 夏照帆. 局部注射重组人干扰素  $\gamma$  治疗瘢痕增生 48 例疗效观察. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(3): 177-178.
- [3] 翁红雷, 蔡卫民, 王宝恩, 等. 重组干扰素  $\gamma$  治疗慢性乙型肝炎肝纤维化临床研究. *中华医学杂志*, 2003, 83(11): 943-947.
- [4] Antoniou KM, Nicholson AG, Dimadi M, et al. Long-term clinical effects of interferon gamma-1b and colchicine in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*, 2006, 28(10): 496-504.
- [5] Rockwell WB, Cohen IK, Ehrlich HP, et al. Keloids and hypertrophic scars: a comprehensive review. *Plast Reconstr Surg*, 1989, 84(5): 827-837.
- [6] Chen Y, Gao JH, Liu XJ, et al. Characteristics of occurrence for Han Chinese familial keloids. *Burns*, 2006, 32(8): 1052-1059.
- [7] Lu F, Cao J, Ogawa R, et al. Biological differences between fibroblasts derived from peripheral and central areas of keloid tissues. *Plast Reconstr Surg*, 2007, 120(3): 625-630.
- [8] 刘旺, 蒋游晖, 李友良, 等. 瘢痕疙瘩成纤维细胞 p53 基因突变的研究. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(2): 85-87.
- [9] 刘晓军, 高建华, 李学雷, 等. 瘢痕疙瘩家系 Fas 基因死亡域突变的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2007, 21(7): 698-701.
- [10] Duong HS, Zhang QZ, Le AD, et al. Elevated prolydase activity in keloids: correlation with type I collagen turnover. *Br J Dermatol*, 2006, 154(5): 820-828.

- [11] 郭丽丽, 刘林, 陈言汤, 等. MMP-1、TIMP-1 及 PDGF 在病理性瘢痕中的表达. 中国美容整形外科杂志, 2006, 17(5): 340-342.
- [12] Fujiwara M, Muragaki Y, Ooshima A. Keloid-derived fibroblasts show increased secretion of factors involved in collagen turnover and depend on matrix metalloproteinase for migration. Br J Dermatol, 2005, 153(2):295-300.
- [13] Colwell AS, Phan TT, Kong W, et al. Hypertrophic scar fibroblasts have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor-beta stimulation. Plast Reconstr Surg, 2005, 116(5):1387-1390, discussion 1391-1392.
- [14] 陈伟, 付小兵, 葛世丽, 等. 增生性瘢痕形成和成熟过程中 TGF- $\beta_1$ 、TGF- $\beta_3$  及其受体的基因表达变化. 中华整形外科杂志, 2004, 20(4):308-309.
- [15] Bock O, Yu H, Zitron S, et al. Studies of transforming growth factors beta 1-3 and their receptors I and II in fibroblast of keloids and hypertrophic scars. Acta Derm Venereol, 2005, 85(3):216-220.
- [16] Pittet B, Rubbia-Brandt L, Desmouliere A, et al. Effect of  $\gamma$ -interferon on the clinical and biologic evolution of hypertrophic scars and Dupuytren's disease: an open pilot study. Plast Reconstr Surg, 1994, 93(6):1224-1235.
- [17] Cornelissen AMH, Maltha JC, Von den Hoff JW, et al. Local injection of IFN-gamma reduces the number of myofibroblasts and the collagen content in palatal wounds. J Dent Res, 2000, 79(10):1782-1788.
- [18] Han R, Smith TJ. Induction by IL-1 beta of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human orbital fibroblasts: modulation of gene promoter activity by IL-4 and IFN-gamma. J Immunol, 2005, 174(5):3072-3079.
- [19] Sobral LM, Montan PF, Martelli-Junior H, et al. Opposite effects of TGF- $\beta_1$  and IFN- $\gamma$  on transdifferentiation of myofibroblast in human gingival cell cultures. J Clin Periodontol, 2007, 34(5):397-406.
- [20] Gu L, Zhu YJ, Guo ZJ, et al. Effect of IFN- $\gamma$  and dexamethasone on TGF- $\beta_1$ -induced human fetal lung fibroblast-myofibroblast differentiation. Acta Pharmacol Sin, 2004, 25(11):1479-1488.
- [21] Tanaka K, Sano K, Nakano T, et al. Suppression of  $\alpha$  smooth muscle actin expression by IFN- $\gamma$  in established myofibroblast cell lines. J Interferon Cytokine Res, 2007, 27(10):835-839.
- [22] Ghosh AK, Yuan W, Mori Y, et al. Antagonistic regulation of type I collagen gene expression by interferon-gamma and transforming growth factor- $\beta$  integration at the level of p300/CBP transcriptional coactivators. J Biol Chem, 2001, 276(14):11041-11048.
- [23] Higashi K, Inagaki Y, Fujimori K, et al. Interferon-gamma interferes with transforming growth factor-beta signaling through direct interaction of YB-1 with Smad3. J Biol Chem, 2003, 278(44):43470-43479.
- [24] Yu H, Bock O, Bayat A, et al. Decreased expression of inhibitory SMAD6 and SMAD7 in keloid scarring. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2006, 59(3):221-229.
- [25] Kopp J, Preis E, Said H, et al. Abrogation of transforming growth factor- $\beta$  signaling by SMAD7 inhibits collagen gel contraction of human dermal fibroblasts. J Biol Chem, 2005, 280(22):21570-21576.
- [26] Ishida Y, Kondo T, Takayasu T, et al. The essential involvement of cross-talk between IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  in the skin wound-healing process. J Immunol, 2004, 172(3):1848-1855.
- [27] Weng H, Mertens PR, Gressner AM, et al. IFN- $\gamma$  abrogates profibrogenic TGF- $\beta$  signaling in liver by targeting expression of inhibitory and receptor Smads. J Hepatol, 2007, 46(2):295-303.
- [28] Dooley S, Said HM, Gressner AM, et al. Y-box protein-1 is the crucial mediator of antifibrotic interferon- $\gamma$  effects. J Biol Chem, 2006, 281(3):1784-1795.
- [29] 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.
- [30] Fitzner B, Brock P, Nechutova H, et al. Inhibitory effects of interferon- $\gamma$  on activation of rat pancreatic stellate cells are mediated by STAT1 and involve down-regulation of CTGF expression. Cell Signal, 2007, 19(4):782-790.

(收稿日期:2008-03-12)

(本文编辑:莫愚)

## · 消息 ·

## 关于延期举办第六届全国烧伤救治专题研讨会的说明

受“5·12”汶川大地震影响以及因陕西地区余震不断,接陕西省医学会5月下旬发文并经请示上级部门,出于安全的考虑,原定于2008年6月13—17日在西安举办的第六届全国烧伤救治专题研讨会,将延期至2009年6月中旬举行,会议地点及研讨内容不变,具体时间另行通知。

本刊编辑部已于5月28日寄发延期举办该会议的紧急通知。

由此给广大拟参会代表带来诸多不便,特致以由衷的歉意!

本刊编辑部