

· 综述 ·

上皮和间质细胞凋亡在肺发育和新生儿肺损伤中的作用

李玉祥 综述, 罗小平 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科学系, 湖北 武汉 430030)

[中图分类号] R722 [文献标识码] A [文章编号] 1008 - 8830(2005)03 - 0286 - 03

细胞凋亡是一种细胞程序性死亡, 在多细胞生物的许多组织器官的发育和损伤中有着重要的意义。本文重点概述细胞凋亡在肺发育和新生儿肺损伤过程中所起的作用。

1 细胞凋亡在肺发育中的作用

在肺发育的各个阶段都可以观测到细胞凋亡, 细胞凋亡在肺发育重构过程中发挥重要作用(见表1)。1998年, 两个独立的研究在胎肺中观测到凋亡现象^[1,2]。在肺发育的整个胚胎期, 在新肺芽生长区域的周围间质都可以检测到细胞凋亡。间质细胞凋亡可以为肺芽生长留出空间, 有趣的是间质细胞发生凋亡和间质细胞增殖同时存在^[3], 这意味着在肺发育过程中细胞凋亡和细胞增殖相互协调是非常

重要的。

出生后, 当初级肺泡囊转变成具有气体交换功能的肺泡过程中凋亡亦发挥非常重要作用^[4]。大鼠在出生后的头两周, 随着肺泡腔的扩张, 纤维母细胞和Ⅱ型肺泡细胞上皮大量产生。大量的Ⅱ型肺泡上皮细胞具有重要作用。一方面, Ⅱ型肺泡细胞可分化为Ⅰ型肺泡上皮细胞, 后者在肺泡微血管成熟过程中对血气屏障的成熟非常关键。另一方面, 肺泡表面活性物质由Ⅱ型肺泡上皮细胞产生。在肺泡成熟后, 过量的Ⅱ型肺泡上皮细胞通过凋亡或分化成肺泡Ⅰ型上皮细胞而使其数量减少^[4]。凋亡的高峰期发生在微血管成熟的后期, 从而使肺泡隔变薄, 此时也可以发现鼠肺纤维母细胞凋亡活性显著增加^[7]。

表1 凋亡在肺发育中的作用

阶段	主要变化	凋亡的作用
胚胎期	肺原基出现, 支气管成形, 上皮细胞和间质细胞广泛增殖。	凋亡出现在支气管点和新肺芽区域, 没有上皮细胞凋亡 ^[1] 。
假腺体期	通过反复的分叉形成支气管树, 气道内层衬着厚的上皮, 此时神经内分泌细胞, 纤毛细胞, 杯状细胞和 Clara 细胞开始分化。	间质细胞的凋亡有助于间质的侵入。没有上皮细胞凋亡 ^[1,2] 。
细支气管期	呼吸性支气管出现, 间质组织量下降, 气道变宽, Ⅱ型肺泡上皮细胞分化成Ⅰ型肺泡上皮细胞, 毛细血管网快速生长。	间质细胞的凋亡有助于间质的侵入和肺泡隔变薄, 上皮细胞凋亡增加和上皮细胞增殖下降 ^[1] 。
肺泡囊期	终末细支气管变宽以形成肺泡囊, 肺泡间质变薄。毛细血管网增加。	上皮细胞凋亡增加 ^[1] 。
肺泡期	出现广泛的肺泡隔, 肺泡上皮和内皮屏障进一步变薄。	在出生时间质细胞凋亡暂时性大幅度上升, 上皮细胞连续增殖 ^[4] 。
微血管期	肺泡隔双层毛细血管减少至一层毛细血管。	细胞凋亡上升以清除多余的细胞 ^[4] 。

2 各种生理刺激诱导细胞凋亡

在宫内, 肺暴露于各种生理因素中, 包括胎儿呼

吸运动和扩张。胎儿呼吸运动为间歇性, 它机械地刺激肺并促使肺液压改变。由胎肺上皮细胞分泌的液体维持一定的肺液压。在肺发育过程中, 当张力由于液体分泌和胎肺呼吸运动而增加时, 肺细胞增

[收稿日期] 2004 - 07 - 05; [修回日期] 2005 - 08 - 30
[基金项目] 国家自然科学基金(编号 30271379); 国家杰出青年科学基金(编号 30125019)
[作者简介] 李玉祥(1965 -), 男, 硕士研究生, 副主任医师。主攻方向: 新生儿疾病。

殖也增加,增殖的高峰在肺发育的细支气管期,以后增殖水平下降,当增殖水平下降时,细胞凋亡活性增高。同样的情况也发现在出生后,此时婴儿自主呼吸,肺泡扩张,张力增大^[2]。在妊娠早期,细胞增殖和凋亡的物理刺激源于生长肺芽的前推运动以及在呼吸道内液体的流动^[5]。活细胞依据环境中的张力信号来决定增殖还是死亡^[6]。凋亡和增殖对于维持肺细胞生长发育及生长所需的空间是非常必要的。在胎鼠肺发育晚期, Juan 等^[7]研究发现,间歇性机械牵张抑制胎鼠肺成纤维母细胞增殖和诱导胎鼠肺成纤维母细胞凋亡,使肺间隔变薄,以利于出生后气体交换。

3 机械信号转导和细胞凋亡的关系

肺泡扩张程度和凋亡活性密切相关,提示机械张力信号可转化为凋亡信号,通过机械信号转导,肺泡牵拉触发上皮细胞和间质细胞凋亡。牵拉促进正常胎肺发育以及诱导细胞凋亡和增殖的机制尚不清楚。一个可能的解释是牵拉刺激对细胞周期进行调控。首先,在肺发育过程中,机械牵张可能促使细胞进入细胞周期 S 期,导致 DNA 合成增加,细胞增殖水平增高。在肺发育晚期,牵张刺激可能产生负反馈机制干扰正常细胞周期,迫使细胞进入 G₀/G₁ 期,而且最终导致细胞死亡^[7]。

细胞和细胞以及细胞和细胞间质的联系在肺发育中极其重要,它们可能与机械信号转导和机械信号感受密切相关。细胞分别通过钙粘着素和整合素家族跨膜受体粘附于邻近细胞和细胞外基质。机械信号怎样通过整合素传递到细胞核以引起细胞凋亡还不清楚。与凋亡相关的机械信号在细胞内转导的主要途径包括 Ras 参与的 MAP 激酶相关途径和磷脂酰肌醇途径^[8]。细胞可以感受自身牵张程度或压力,从而监控局部细胞拥挤程度或细胞外基质顺应性变化,并作出相应调整。引起整合素信号变化的机械信号和引起细胞形状变化的机械信号在细胞局部整合起来并最终确定信号传导方向,从而导致细胞凋亡或增殖。

4 高氧肺损伤动物模型中的细胞凋亡

新生儿暴露于高氧环境中所致的肺损伤是支气管肺发育不良 (bronchopulmonary dysplasia, BPD) 发病的重要因素之一。McGrath-Morrow 等^[9]利用新生鼠高氧肺损伤动物模型研究 BPD 时发现,92% 氧暴

露时间越长,肺细胞凋亡越多,在高氧暴露 72 h 后细胞坏死才成为细胞死亡的重要形式。在军团杆菌肺炎动物模型中,给予高氧处理,同样发现高氧通过凋亡加剧肺损伤^[10]。在高浓度供氧下,肺组织通过上调 p53、p21 基因及其蛋白的表达^[11,12],阻止 G₀/G₁ 期细胞进入 S 期,抑制细胞分裂、增殖,促进肺泡上皮细胞和内皮细胞凋亡,从而导致肺生长发育受阻和肺损伤。Fas mRNA 表达在高氧期间仅轻度上调,并且 Fas 缺陷、p53 基因敲除或单独使用 caspase 抑制剂都不能减轻高氧肺损伤。O'Reilly 等^[12]研究表明高氧肺损伤不依赖于 Bcl-2 基因家族的表达,在高氧肺损伤中可能有多种途径参与,不同的刺激在不同的细胞通过不同的途径诱导凋亡,单纯一种抗凋亡途径难以减轻高氧肺损伤^[11]。

5 高氧环境下 A549 细胞培养中的细胞凋亡

Kazzaz 等^[13]发现高氧主要通过坏死而不是凋亡杀死细胞,而致死量的 H₂O₂ 和 O₂ 主要通过凋亡杀死细胞。II 型肺泡上皮细胞 (A549) 在体外高氧条件下培养没有检测到凋亡存在,而凋亡是动物吸入 100% O₂ 后所致。A549 细胞高氧体外实验和体内实验结果不完全一致,提示体内凋亡不是高氧直接作用结果。细胞是凋亡还是坏死取决于细胞内的 ATP 水平和细胞所接受的刺激信号类型^[14]。Allen 等^[15]发现 A549 细胞在高氧环境下培养时细胞内 ATP 水平下降和葡萄糖衰竭。McGrath-Morrow 等^[16]发现, A549 细胞系在高氧条件下体外培养时也表现出明显的生长抑制。高氧可作用于细胞周期的不同阶段,主要为 S 期,其作用与 cyclin B1 蛋白表达下降有关。流式细胞仪显示高氧环境中 A549 细胞处于 G₁ 期细胞百分率下降,而处于 S 期和 G₂/M 期的细胞百分率中度增高。A549 细胞分别在空气和高氧条件下培养时,用有丝分裂抑制剂诺考达唑处理,空气对照组在处理后的 G₂/M 期细胞明显增加,而高氧处理组处于 G₂/M 期细胞仅稍有增加, G₁ 期细胞中度减少。表明高氧使细胞有丝分裂障碍,从而抑制 A549 细胞生长、增殖及代谢过程。大多数细胞凋亡表现为细胞周期的特异性,高氧时 A549 细胞周期发生改变,一方面可以为 DNA 修复赢得时间,另一方面,如果细胞内损伤无法修复,则促进细胞凋亡。

6 细胞凋亡在 BPD 患儿中的作用

Lukkarinen 等^[17]研究表明,因呼吸窘迫综合征

而死亡的早产儿肺泡上皮细胞存在严重的细胞凋亡现象,而早产儿呼吸窘迫综合征常发展成为 BPD。Hargital 等^[18]研究发现在 BPD 的 I 期,肺泡细胞和支气管细胞凋亡活性较低,而在 BPD 的 II, III, IV 期,肺泡细胞和支气管细胞凋亡率明显增高,因此认为肺组织细胞凋亡率增高是支气管肺发育不良发病的重要机制。

在 BPD 患儿中,几种炎症因子通过诱导细胞凋亡从而影响肺泡和肺血管发育^[19]。

TNF- α 是急性肺损伤主要炎症因子,而且参与 BPD 的病理生理过程。Li 等^[20]在早产儿慢性肺病肺组织中已经检测到解脲支原体通过 TNF- α 诱导 II 型肺泡上皮细胞、间质细胞和巨噬细胞凋亡,抗 TNF- α 单克隆抗体能部分阻止因感染解脲支原体而发生的凋亡,从而减轻肺损伤。

另外,早产儿气道中升高的碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)水平与细胞凋亡、BPD 和死亡相关^[21]。肺泡上皮细胞对 Fas 介导的凋亡敏感,而成纤维母细胞对 Fas 介导的凋亡不敏感,肺泡上皮细胞增多,而成纤维母细胞凋亡减少,bFGF 使成纤维母细胞迁移和增殖,从而使纤维细胞大量增生导致 BPD 患儿肺纤维化^[22,23]。

目前细胞凋亡在 BPD 诊断和治疗中的应用尚处在探索中。应用多种 BPD 模型,观察肺细胞凋亡在其发病中的作用以及细胞凋亡的具体途径,并且在 BPD 的动物模型中开展细胞凋亡的基因治疗以及相关干预治疗研究已十分必要。这些研究必将为新生儿 BPD 细胞凋亡治疗新途径提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Scavo LM, Ertsey R, Chapin CJ, Allen L, Kitterman JA. Apoptosis in the development of rat and human fetal lungs[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 18(1):21-31.
- [2] Kresch MJ, Christian C, Wu F, Hussain N. Ontogeny of apoptosis during lung development[J]. *Pediatr Res*, 1998, 43(3):426-431.
- [3] Levesque BM, Vosatka RJ, Nielsen HC. Dihydrotestosterone stimulates branching morphogenesis, cell proliferation, and programmed cell death in mouse embryonic lung explants[J]. *Pediatr Res*, 2000, 47(4 Pt 1):481-491.
- [4] Schittny Jc, Djonov V, Fine A, Burri PH. Programmed cell death contributes to postnatal lung development[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 18(6):786-793.
- [5] Schittny JC, Miserocchi G, Sparrow MP. Spontaneous peristaltic airway contractions propel lung liquid through the bronchial tree of intact and fetal lung explants[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, 23(1):11-18.
- [6] Kitano Y, Von Allmen D, Kanai M, Quinn TM, Davies P, Kitano Y, et al. Fetal lung growth after short-term tracheal occlusion is

- linearly related to intratracheal pressure[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90(2):493-500.
- [7] Sanchez-Esteban J, Wang Y, Cicchiello LA, Rubin LP. Cyclic mechanical stretch inhibits cell proliferation and induces apoptosis in fetal rat lung fibroblasts[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(3):I448-I456.
- [8] Ichijo H, Nishida E, Irie K, ten Dijke P, Saitoh M, Moriguchi T, et al. I Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways[J]. *Science*, 1997, 275(5296):90-94.
- [9] McGrath-Morrow SA, Stahl J. Apoptosis in neonatal murine lung exposed to hyperoxia[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 25(2):150-155.
- [10] Tateda K, Deng JC, Moore TA, Newstead MW, Paine R 3rd, Kobayashi N, et al. Hyperoxia mediates acute lung injury and increased lethality in murine *Legionella pneumoniae*; the role of apoptosis[J]. *J Immunol*, 2003, 170(8):4209-4216.
- [11] Barazzone C, Horowitz S, Donati YR, Rodriguez I, Piguet PF. Oxygen toxicity in mouse lung: pathways to cell death[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 19(4):573-581.
- [12] O'Reilly MA, Staversky RJ, Huyck HL, Watkins RH, LoMonaco MB, D'Angio CT, et al. Bcl-2 family gene expression during severe hyperoxia induced lung injury[J]. *Lab Invest*, 2000, 80(12):1845-1854.
- [13] Kazzaz JA, Xu J, Palaia TA, Mantell L, Fein AM, Horowitz S. Cellular oxygen toxicity. Oxidant injury without apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(25):15182-15186.
- [14] Lelli JL, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB. ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 25(6):694-702.
- [15] Allen CB, White CW. Glucose modulates cell death due to normobaric hyperoxia by maintaining cellular ATP[J]. *Am J Physiol*, 1998, 274(1 Pt 1):L159-L164.
- [16] McGrath-Morrow SA, Stahl J. Growth arrest in A549 cells during hyperoxic stress is associated with decreased cyclin B1 and increased p21 (Waf1/Cip1/Sdi1) levels[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1538(1):90-97.
- [17] Lukkariinen HP, Laine J, Kaapa PO. Lung Epithelial Cells Undergo Apoptosis in Neonatal Respiratory Distress Syndrome[J]. *Pediatr Res*, 2003, 53(2):254-259.
- [18] Hargital B, Szabo V, Hajdu J, Harmath A, Pataki M, Farid P, et al. Apoptosis in various organs of preterm infants: histopathologic study of lung, kidney, liver, and brain of ventilated infants[J]. *Pediatr Res*, 2001, 50(1):110-114.
- [19] Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia[J]. *Semin Neonatol*, 2003, 8(1):29-38.
- [20] Li YH, Chen M, Brauner A, Zheng C, Skov Jensen J, Tullus K. Ureaplasma urealyticum induces apoptosis in human lung epithelial cells and macrophages[J]. *Biol Neonate*, 2002, 82(3):166-173.
- [21] Ambalavanan N, Novak ZE. Peptide growth factors in tracheal aspirates of mechanically ventilated preterm neonates[J]. *Pediatr Res*. 2003, 53(2):240-244.
- [22] Tanaka T, Yoshimi M, Maeyama T, Hagimoto N, Kuwano K, Hara N. Resistance to Fas-mediated apoptosis in human lung fibroblast[J]. *Eur Respir J*, 2002, 20(2):359-368.
- [23] Wang L, Antonini JM, Rojasasakul Y, Castranova V, Scabilloni JF, Mercer RR. Potential role of apoptotic macrophages in pulmonary inflammation and fibrosis[J]. *J Cell Physiol*. 2003, 194(2):215-224.

(本文编辑:王霞)