

# SphK1/S1P 信号通路在肺纤维化发生中的作用\*

刘利娟 综述 李 傲<sup>△</sup> 审校

(重庆理工大学药学与生物工程学院, 重庆 400054)

**摘 要** 纤维化是一种病理过程, 其以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的大量沉积为主要特征。纤维化发生在包括肺、肝脏、心脏和肾脏在内的各种器官中, 最终导致器官结构扭曲和严重功能障碍。1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)是一种具有生物活性的溶血磷脂, 发挥多种活性, 包括细胞增殖、存活、分化、迁移、炎症、血管生成和内皮屏障完整性等过程。越来越多的证据表明, SphK1/S1P 信号通路在肺纤维化疾病的发生发展中起着重要作用, 研究其相关作用与功能, 可为治疗难治性纤维化性疾病提供新的思路和药物治疗靶点。

**关键词** 1-磷酸鞘氨醇; 1-磷酸鞘氨醇受体; 鞘氨醇激酶; 肺纤维化

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2019)12-424-04

## The role of SphK1/S1P signaling pathway in pulmonary fibrosis

LIU Lijuan, LI Ao

(School of Pharmacy & Bioengineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China)

**Abstract:** Fibrosis is a pathological process characterized by massive deposition of extracellular matrix (ECM). Fibrosis occurs in various organs including the lung, liver, heart, and kidney, eventually leading to structural distortion and severe dysfunction. Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a biologically active lysophospholipid that exerts a variety of activities including cell proliferation, survival, differentiation, migration, inflammation, angiogenesis, and endothelial barrier integrity. Many studies suggests that SphK1/S1P signaling pathway plays an important role in the occurrence and development of pulmonary fibrosis. The functional mechanisms of S1P would provide potential therapeutic strategies and targets for refractory fibrotic diseases.

**Keywords:** Sphingosine 1-phosphate; Sphingosine 1-phosphate receptors; Sphingosine kinases; Pulmonary fibrosis

1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)作为一种常见的信使分子, 在炎症、血管生成、内皮屏障完整性以及细胞增殖、分化、迁移等过程中起着关键作用, 是癌症、动脉粥样硬化、纤维化和多发性硬化症等多种疾病的重要调节者<sup>[1]</sup>。目前, SphK1/S1P 信号通路在肺纤维化中的作用研究已取得一些进展, 本文就该方面的研究作一综述。

### 1 SphK1/S1P 信号通路及其功能

1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)

是一种具有生物活性的溶血磷脂, 具有多种生理作用。在体内, 鞘磷脂(sphingomyelin, SP)可在神经磷脂酶的作用下, 生成神经酰胺(ceramide, Cer), 而 Cer 在神经酰胺酶的作用下生成鞘氨醇(sphingosine, Sph)<sup>[2]</sup>。鞘氨醇通过鞘氨醇激酶(sphingosine kinases, SphKs)磷酸化, 最终生成 S1P。S1P 特异性结合 S1P 受体(sphingosine 1-phosphate receptors, S1PRs), 调控细胞多种生理进程。

#### 1.1 SphKs 及其功能

SphKs 是调控 S1P 合成的关键限速酶, 它有两种同工酶, 即鞘氨醇激酶 1(sphingosine kinase 1, SphK1)和鞘氨醇激酶 2(sphingosine kinase 2, SphK2)。两种 SphKs 均可磷酸化鞘氨醇以形成 S1P, 从而激活多种细胞外和细胞内信号传导机

\* [基金项目] 国家自然科学基金(81703687); 重庆市卫生和计划生育委员会中医药科技项目(ZY201702122); 重庆理工大学研究生创新项目(ycx2018250)

<sup>△</sup> [通信作者] 李傲, E-mail: ao\_li@cqut.edu.cn

制<sup>[3]</sup>。SphK1 和 SphK2 已被证实可调节不同的细胞生理功能。SphK1 主要表达于细胞质中,在细胞质中它可被磷酸化激活并转移至质膜上,促进细胞存活和增殖;而 SphK2 仅表达在某些组织的细胞核和线粒体内膜,主要参与凋亡的诱导和细胞周期阻滞<sup>[4]</sup>。

### 1.2 S1P 裂解酶 (sphingosine-1-phosphate lyase, S1PL) 及其功能

S1PL 是一种胞内酶,它控制鞘磷脂降解途径的最终步骤,是鞘磷脂分解代谢的重要生化途径<sup>[5]</sup>。S1PL 通过催化 S1P C2-3 碳键裂解,导致其不可逆降解为磷酸乙醇胺和十六碳烯醛。当 S1PL 功能发生异常时,S1P 及其上游的鞘磷脂中间体会在细胞中积累,导致器官功能障碍<sup>[6-7]</sup>。

### 1.3 S1P 受体家族及其功能

S1P 受体是一种 G 蛋白偶联受体,具有 5 种不同的亚型: S1PR1-5。其中, S1PR1、S1PR2 和 S1PR3 广泛表达于脑、肺、肝、心、脾、胸腺、肾、骨骼肌等多种组织,而 S1PR4 仅表达于淋巴和造血组织, S1PR5 表达于中枢神经系统<sup>[8-9]</sup>。S1P 特异性结合 S1PR1-5,通过 S1P 受体介导的细胞内信号通路,调控细胞多种生理进程。

## 2 肺纤维化的发病机制

肺纤维化是一类以肺泡上皮损伤和肌成纤维细胞积聚为特征的肺部疾病。肺纤维化的发生,主要由于上皮损伤,导致肺泡上皮细胞异常活化,产生大量细胞因子,炎性细胞浸润,募集并激活大量成纤维细胞向肌成纤维细胞分化<sup>[10]</sup>。活化后的肌成纤维细胞可合成分泌大量的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM),并沉积于肺间质,导致肺组织瘢痕形成,肺组织结构进行性和不可逆破坏,最终导致肺功能丧失、气体交换中断和呼吸衰竭<sup>[11]</sup>。最为典型的肺纤维化疾病是特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF),其特征是成纤维细胞的增殖与细胞外基质重塑,导致肺结构的不可逆变形<sup>[12]</sup>。目前已知多种细胞因子在不同阶段调节肺纤维化的发生和病理进程。

## 3 SphK1/S1P 信号通路在肺纤维化中的作用

### 3.1 SphK1

Zhang 等<sup>[1]</sup>研究发现,给予博莱霉素或 TGF- $\beta$ ,可分别导致肺组织和人胚胎肺成纤维细胞

(HEL F) 中 SphK1 水平的升高, S1P 的水平也随之升高。Sferra 等<sup>[13]</sup>在博莱霉素诱导的肺纤维化模型小鼠中也发现,其肺组织中 SphK1 mRNA 和蛋白质水平表达增加,当使用 SphKs 抑制剂后,博莱霉素诱导的肺损伤和纤维化程度明显减轻。同时,在博莱霉素或 TGF- $\beta$  刺激的 HELF 中, SphK1 mRNA 和蛋白表达增加,纤维化表型相关标志物 FN 和  $\alpha$ -SMA 的表达也增加,使用 TGF- $\beta$  的中和抗体,可明显逆转这一过程。此结果表明, TGF- $\beta$  介导的肺纤维化过程,可能依赖于 SphK1 为限速酶合成的 S1P 发挥作用。因此, SphK1 可能会成为未来治疗肺纤维化的新靶点。

### 3.2 S1P 降解过程

TGF- $\beta$  可通过提高转录因子 Smad3 与 S1PL 基因 Sgpl1 启动子的结合能力,从而上调了 HELF 中 S1PL 基因的转录水平<sup>[14]</sup>;此外,过表达 S1PL 基因可引起 TGF- $\beta$  诱导的 HELF 中 FN 和  $\alpha$ -SMA 表达下降;相反,敲除 S1PL 基因 (Sgpl1<sup>+/-</sup>) 可发现博莱霉素诱导的小鼠肺组织 FN 和  $\alpha$ -SMA 的蛋白表达量显著增加,提示 S1PL 基因缺失可加重博莱霉素诱导的肺纤维化。因此, S1PL 很可能作为一种肺纤维化的内源性抑制因子,通过增加 S1PL 活性或表达方式,可为未来肺纤维化治疗提供新的方向。

### 3.3 S1P 受体家族

在体内, S1P 作用于 S1PRs 后,能够调节多种生理生化过程。其中,起主要调控作用的是 S1PR1、S1PR2 和 S1PR3<sup>[15]</sup>。当使用高剂量的非选择性 S1PRs 激动剂 FTY720 处理博莱霉素诱导的模型小鼠时,可发现小鼠肺血管渗漏及纤维化程度明显增加<sup>[16]</sup>。FTY720 可促进 HELF 向肌成纤维细胞分化,增加 TGF- $\beta$  的表达水平,并增加 ECM 的沉积。这种 FTY720 的促纤维化作用,不依赖于经典的 Smad 信号通路<sup>[17]</sup>。此外, Sobel 等<sup>[18]</sup>研究发现,当 TGF- $\beta$ 1 处理 HELF 后,胞内 Smad2/3 磷酸化水平明显升高,ECM 合成和分泌能力也随之增加;采用 S1PRs 激动剂处理细胞后,未发现有 Smad2/3 磷酸化水平的升高,此时胞内的 PI3K/Akt 和 ERK1/2 信号通路却被磷酸化激活。此外,当使用 S1PR2/3 拮抗剂、ERK1/2 抑制剂或 PI3K 抑制剂处理 HELF 后,可明显抑制 S1P 促 ECM 合成的能力。由此可见 S1P 可能通过一条非依赖于 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 的信号通路,特异性激活位于

S1PR2/3 下游的 PI3K/Akt 和 ERK1/2 信号通路,从而实现其促肺纤维化的作用。

近年来的一项研究表明,在 S1PR2<sup>LacZ/+</sup>小鼠中,可观察到 S1PR2 在肺泡巨噬细胞、血管内皮细胞和肺泡上皮细胞中表达,同时 S1PR2 在纤维化细胞群中也大量表达。通过基因编辑方式敲除 S1PR2,可减轻博来霉素诱导的小鼠肺纤维化<sup>[19]</sup>。此外, Park 等<sup>[20]</sup>通过博来霉素诱导的肺纤维化模型发现,当给予博来霉素后的第 7 天, S1PR2 缺陷型小鼠的肺部炎症表现(包括细胞浸润和促炎性细胞因子含量)明显弱于野生型小鼠。博来霉素治疗后的第 28 天,野生型小鼠的肺组织中已观察到严重的炎症和纤维化,而 S1PR2 缺陷型小鼠的肺组织中,却较少出现炎症和纤维化表型。他们又进一步使用 S1PR2 抑制剂 JTE-013 作用于肺上皮细胞,发现 JTE-013 可显著抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导细胞发生间质转化和 ECM 积聚。此外,在细胞中敲除 S1PR2 或 S1PR3 基因后,同样可抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的  $\alpha$ -SMA 表达。此项研究提示, TGF- $\beta$ 1 通过 S1PR2/3 途径,诱导了上皮细胞向肌成纤维细胞分化。由此可见, S1PR2/3 可能参与肺纤维化的炎症和纤维化进程。因此,通过抑制 S1PR2/3 及其后续介导的信号通路,可能是治疗肺纤维化疾病的新途径。

与 S1PR2/3 不同的是, S1P/S1PR1 介导的信号通路可能参与了内皮细胞屏障功能的调控。在博来霉素诱导的肺纤维化模型中,给予小鼠 S1PR1 激动剂 FTY720 或 AUY954 24h 时后,肺组织毛细血管内皮屏障的完整性增加,由损伤引起的血管渗漏减少;然而,当小鼠长期反复注射 S1PR1 选择性激动剂后,却会增加博来霉素刺激的小鼠肺血管渗透性和死亡率;同时,持续接触 S1PR1 激动剂后,小鼠的肺纤维化程度也明显加重<sup>[21]</sup>。因此, S1PR1 激动剂在不同的作用时间,对纤维化进程表现出不同的作用。关于 S1PR1 在肺纤维化的具体作用机制,还有待进一步研究证实。

#### 4 小结与展望

综上所述, S1P 通过与不同的 S1PRs 结合,启动胞内下游信号传递过程,从而影响肺血管屏障功能、炎性细胞在肺组织中的趋化、成纤维细胞迁移、增殖和肌成纤维细胞的分化,从而参与了肺纤维化的病理生理进程。因此,经由 SphKs, S1PL 及 S1P

转运蛋白参与调控的 S1P 合成与代谢途径,在脏器纤维化发生过程中发挥了极其重要的作用。然而, S1P 及其相关信号通路尚未完全阐明,在不同器官和物种中, S1P 究竟发挥促进还是抑制纤维化作用,又往往取决于相应的病理环境和损伤刺激强度,这些都是我们亟需研究的内容。此外, S1P 信号通路与 TGF- $\beta$  信号通路在多个环节存在着相互串话的现象,深入阐明这一复杂的相互作用机制,可为未来治疗肺纤维化疾病提供更多有效的药物靶点。

#### 参考文献:

- [1] Zhang X, Cai Y, Zhang W, et al. Quercetin ameliorates pulmonary fibrosis by inhibiting SphK1/S1P signaling [J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96 (6): 742-751. DOI: 10.1139/bcb-2017-0302.
- [2] Saba JD, Hla T. Point-counterpoint of sphingosine 1-phosphate metabolism [J]. *Circ Res*, 2004, 94 (6): 724-734. DOI: 10.1161/01. Res. 0000122383. 60368. 24.
- [3] Cannavo A, Liccardo D, Komici K, et al. Sphingosine kinases and sphingosine 1-phosphate receptors: signaling and actions in the cardiovascular system [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 556. DOI: 10.3389/fphar. 2017. 00556.
- [4] Ng ML, Wadham C, Sukocheva OA. The role of sphingolipid signalling in diabetes-associated pathologies (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39 (2): 243-252. DOI: 10.3892/ijmm. 2017. 2855.
- [5] Choi YJ, Saba JD. Sphingosine phosphate lyase insufficiency syndrome (SPLIS): a novel inborn error of sphingolipid metabolism [J]. *Adv Biol Regul*, 2019, 71: 128-140. DOI: 10.1016/j. jbior. 2018. 09. 004.
- [6] Suryadevara V, Fu P, Ebenezer DL, et al. Sphingolipids in ventilator induced lung injury: role of sphingosine-1-phosphate lyase [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (1): 114. DOI: 10.3390/ijms19010114.
- [7] Ebenezer DL, Fu P, Suryadevara V, et al. Epigenetic regulation of pro-inflammatory cytokine secretion by sphingosine 1-phosphate (S1P) in acute lung injury: role of S1P lyase [J]. *Adv Biol Regul*, 2017, 63: 156-166. DOI: 10.1016/j. jbior. 2016. 09. 007.
- [8] Motyl J, Strosznajder JB. Sphingosine kinase 1/sphingosine-1-phosphate receptors dependent signalling in neuronal diseases. The promising target for neuroprotection in Parkinson's disease [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70 (5): 1010-1014. DOI: 10.1016/j. pharep. 2018. 05. 002.

- [9] Patmanathan SN, Wang W, Yap LF, et al. Mechanisms of sphingosine 1-phosphate receptor signalling in cancer [J]. Cell Signal, 2017, 34:66-75. DOI:10. 1016/j. cell-sig. 2017. 03. 002.
- [10] 张兆强, 张鲁华, 林立, 等. 矽尘对实验小鼠肺组织 TOLL 样受体 2、4、9 mRNA 表达的影响[J]. 济宁医学院学报, 2017, 40(1): 21-24. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2017. 01. 005.
- [11] Mira-Avendano I, Abril A, Burger CD, et al. Interstitial lung disease and other pulmonary manifestations in connective tissue diseases [J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(2): 309-325. DOI: 10. 1016/j. mayocp. 2018. 09. 002.
- [12] Sgalla G, Iovene B, Calvella M, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and management [J]. Respir Res, 2018, 19(1): 32. DOI: 10. 1186/s12931-018-0730-2.
- [13] Sferri R, Pompili S, Ventura L, et al. Interaction between sphingosine kinase/sphingosine 1 phosphate and transforming growth factor-beta/Smads pathways in experimental intestinal fibrosis. An in vivo immunohistochemical study [J]. Eur J Histochem, 2018, 62(3): 2956. DOI: 10. 4081/ejh. 2018. 2956.
- [14] Huang LS, Berdyshev EV, Tran JT, et al. Sphingosine-1-phosphate lyase is an endogenous suppressor of pulmonary fibrosis: role of S1P signalling and autophagy [J]. Thorax, 2015, 70(12): 1138-1148. DOI: 10. 1136/thoraxjnl-2014-206684.
- [15] Chaudhry BZ, Cohen JA, Conway DS. Sphingosine 1-phosphate receptor modulators for the treatment of multiple sclerosis [J]. Neurotherapeutics, 2017, 14(4): 859-873. DOI: 10. 1007/s13311-017-0565-4.
- [16] Gendron DR, Lemay AM, Lecours PB, et al. FTY720 promotes pulmonary fibrosis when administered during the remodelling phase following a bleomycin-induced lung injury [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2017, 44: 50-56. DOI: 10. 1016/j. pupt. 2017. 03. 010.
- [17] Zhang X, Liu H, Wang S, et al. LncRNA analysis of lung tissues after hUC-MSCs and FTY720 treatment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mouse models [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 71: 68-75. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2019. 03. 017.
- [18] Sobel K, Menyhart K, Killer N, et al. Sphingosine 1-phosphate (S1P) receptor agonists mediate pro-fibrotic responses in normal human lung fibroblasts via S1P2 and S1P3 receptors and Smad-independent signaling [J]. J Biol Chem, 2013, 288(21): 14839-14851. DOI: 10. 1074/jbc. M112. 426726.
- [19] Zhao J, Okamoto Y, Asano Y, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor-2 facilitates pulmonary fibrosis through potentiating IL-13 pathway in macrophages [J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0197604. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0197604.
- [20] Park SJ, Im DS. Deficiency of sphingosine-1-phosphate receptor 2 (S1P) attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Biomol Ther (Seoul), 2019, 27(3): 318-326. DOI: 10. 4062/biomolther. 2018. 131.
- [21] Shea BS, Brooks SF, Fontaine BA, et al. Prolonged exposure to sphingosine 1-phosphate receptor-1 agonists exacerbates vascular leak, fibrosis, and mortality after lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2010, 43(6): 662-673. DOI: 10. 1165/rcmb. 2009-0345OC.

(收稿日期 2019-06-10)

(本文编辑:石俊强)

• 读者 • 作者 • 编者 •

## 本刊对来稿中表、图的要求

来稿中的表、图均须置于正文中,切勿单独放于文后。每幅表、图应有言简意赅的题目。

统计表格一律采用“三线表”格式,不用纵线、斜线。要合理安排纵表的横标目,并将数据的含义表达清楚;若有合计或统计学处理行(如  $F$  值、 $P$  值等),则在该行上面加一条分界横线;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同。

图片应清晰,不宜过大。图的宽×高为 7cm×5cm,最大宽度半栏图不超过 7.5cm,通栏图不超过 17.0cm,高与宽的比例应掌握在 5:7 左右。

本刊编辑部