

### 【国家自然科学基金专题述评】

种人类 caspase 基因已经明确,其中 caspase-12 是一种在高加索人功能未知但在阿富汗后裔的 1 个亚群起作用的假基因<sup>[13]</sup>。研究提示,有 7 种 caspase 以凋亡为主要功能参与了凋亡过程,分为起始型 caspase (caspase-2、caspase-8、caspase-9) 和效应型 caspase (caspase-3、caspase-6、caspase-7)。其他 caspase 如人类的 caspase-1、caspase-4、caspase-5 以及鼠 caspase-11、caspase-12 参与细胞因子加工和炎症反应<sup>[13]</sup>。

### 1.3 DR 信号通路及其对肺纤维化的调控作用

**1.3.1 Fas/FasL 信号通路介导的细胞凋亡在尘肺纤维化中的作用** Fas 广泛表达于机体多种组织细胞,相对分子质量为 45 000,其基因组位于人类第 10 号染色体上。Fas 具有 3 个富含半胱氨酸的胞外区和 1 个称为死亡结构域 (death domain, DD) 的胞内区。FasL 与 Fas 结合后,Fas 三聚化使胞内的 DD 区构象改变,然后与接头蛋白凋亡蛋白-1 相关的死亡结构域 (Fas-associate death domain, FADD) 的 DD 区结合,而后 FADD 的 N 端死亡效应结构域就能与 caspase-8 (或 caspase-10) 前体蛋白结合,形成死亡诱导信号复合体<sup>[14]</sup>,引起 caspase-8、caspase-10 通过自身激活,启动 caspase 的级联反应,使 caspase-3、caspase-6、caspase-7 激活,这几种 caspase 可降解胞内结构蛋白和功能蛋白,最终导致细胞凋亡。

临床研究发现,几种肺疾病患者支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中的肺泡上皮细胞 (alveolar epithelial cells, AEC)、AM、中性粒细胞和淋巴细胞免疫组织化学染色 Fas 均呈阳性,其中 AM 中 Fas 表达在结节病最强,原发性肺癌和肺纤维化次之,健康人最低,因此认为,分析 BALF 中的 Fas 抗原表达水平可用于评价凋亡在肺稳态及病理中的作用<sup>[15]</sup>。动物实验表明,可溶性的 Fas (sFas) 抗原、抗 FasL 抗体均能减轻染尘或博来霉素模型动物的肺纤维化程度,而抗 Fas 抗体可促使肺纤维化的发生<sup>[16]</sup>。Fas、FasL 基因突变体小鼠 C3H-lpr、C3H-gld 给予博来霉素后,未出现野生型小鼠的肺肺炎和支气管炎,未出现肺泡的塌陷、缺失、成纤维细胞的取代以及肺泡管、支气管的扩张<sup>[17]</sup>。因此,认为 Fas/FasL 系统在肺纤维化过程中起着重要作用。

**1.3.1.1 Fas/FasL 信号通路介导的 AM 凋亡在尘肺纤维化中的作用** AM 是矽尘的主要靶细胞,活化的 AM 释放的生物活性物质在早期肺损伤中起主要作用。体外试验及动物整体实验研究表明,AM 吞噬矽尘颗粒被活化并上调促凋亡基因的表达,从而产生 caspase 依赖性凋亡;凋亡的 AM 被其他正常

AM 吞噬,二者均可合成和释放前炎症因子、花生四烯酸代谢产物等,趋化巨噬细胞至肺泡腔,引发巨噬细胞性肺炎,启动肺组织纤维化进程<sup>[18]</sup>;AM 过度凋亡,可导致其吞噬凋亡小体的功能障碍,从而诱发肺纤维化。

研究表明,Fas/FasL 在 AM 的过度表达是矽肺发生的始动环节;中性粒细胞募集反应减弱、TNF 等炎症因子释放减少,是 FasL 缺陷小鼠不发生矽肺的重要因素<sup>[19]</sup>。曾有学者采用免疫组织化学和形态学测定定量分析了 23 个矽肺患者活检肺组织中 FasL 和 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B lymphoma-2, Bcl-2) 的表达情况,发现二者的过度表达与胶原纤维和弹力纤维在矽肺中沉积量密切相关<sup>[20]</sup>。FasL 本身是中性粒细胞的趋化剂,可募集中性粒细胞导致结缔组织损伤。在急性炎症早期,FasL 信号引起 AM 凋亡,伴发白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin 1 beta, IL-1 $\beta$ ) 和趋化因子的释放,导致中性粒细胞浸润,加重炎症反应。因此,阻断 Fas/FasL 通路可以阻断或者减轻炎症和肺纤维化。作者的初步研究发现,接触矽尘或煤矿粉尘的 0 + 接尘工人、I 期和 II 期尘肺患者大容量肺灌洗液中 AM 的凋亡程度随肺纤维化程度的增高而增高,与接尘工龄、发病工龄均有关联,阻断信号通路后 AM 凋亡程度降低;Fas、FasL、caspase-8 和 caspase-3 均有一定程度的表达;自由基清除剂超氧化物歧化酶复合酶可阻断 Fas/FasL 信号通路的信号转导,下调 Fas、FasL、caspase-8 和 caspase-3 的表达水平,减轻 AM 凋亡程度;抗-FasL 可通过抑制 Fas 与 FasL 的结合而下调 caspase-8 和 caspase-3 的表达,抑制 AM 凋亡;caspase-8 抑制剂 Z-IETD-FMK 可通过抑制前体 caspase-8 的激活,从而下调下游 caspase-3 的表达及 AM 凋亡水平<sup>[21-22]</sup>。

**1.3.1.2 Fas/FasL 信号通路介导的 AEC 凋亡在尘肺纤维化中的作用** 肺纤维化始于肺泡,AEC 损伤、肺肺炎可能是疾病的早期事件。AEC 存在 Fas 受体,其凋亡过程可受 Fas 基因的调控<sup>[23]</sup>。AEC 凋亡在肺纤维化中起重要作用。研究发现 SiO<sub>2</sub> 长期作用于肺泡,可发生呼吸爆发和自由基连锁反应,产生的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 包括羟自由基、超氧阴离子、过氧化氢和单线态氧以及诱发的活性氮 (reactive nitric species, RNS) 自由基,可使线粒体功能紊乱、DR 及其配体基因表达上调,从而导致 AEC 的凋亡<sup>[24]</sup>。来源于博来霉素诱发的实验动物性肺纤维化组织的 AEC 凋亡与 Fas 表达上调以及 Fas/FasL 通路基因激活有关,同时发现平滑肌肌动蛋白阳性细胞过表达 FasL,在特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 患者也有同样的

结果。体内实验表明,FasL 阳性肌成纤维细胞可诱导小鼠 AEC 发生凋亡。因此肌成纤维细胞毒性成为上皮重塑缺失导致持久肺纤维化的基础<sup>[25]</sup>。

**1.3.1.3 Fas/FasL 信号通路介导的肺成纤维细胞凋亡在尘肺纤维化中的作用** 成纤维细胞合成分泌的胶原纤维、弹性纤维、网状纤维及有机基质等是肺细胞外基质的主要来源。成纤维细胞只有受到外来刺激活化时才会大量增殖、分泌细胞因子,转变为肌成纤维细胞。因此,抑制成纤维细胞活化、促进成纤维细胞凋亡是抗纤维化的关键<sup>[26]</sup>。近年来研究发现,成纤维细胞抵抗细胞凋亡的机制存在于间质性肺疾病(interstitial lung disease,ILD)病理生理的全过程。IPF 患者肺成纤维细胞中的酪氨酸激酶受体(discoidin domain receptor,DDR)表达水平明显高于健康人,激活的 DDR1 可抑制 Fas/FasL 介导的成纤维细胞凋亡、激活核转录因子- $\kappa$ B(neuclear factor kappa B,NF- $\kappa$ B)的转录。用 siRNA 沉默 DDR1 以及 NF- $\kappa$ B 抑制剂抑制 NF- $\kappa$ B 的表达均可消除成纤维细胞的抗凋亡作用<sup>[27]</sup>。

**1.3.1.4 Fas/FasL 信号通路介导的其他免疫细胞凋亡在尘肺纤维化中的作用** 多种免疫细胞参与了ILD 的发病过程,HAMZAOUI 等<sup>[28]</sup>采用流式细胞仪检测了 10 例矽肺患者和 10 例健康对照的非黏附细胞中 Fas、FasL 及其共表达,发现矽肺患者 Fas 和 FasL 表达水平高于健康对照,矽肺患者 6%~18% 的淋巴细胞共表达 Fas 和 FasL,BAL 中 CD4、CD56、CD45RO 阳性细胞均高表达 FasL,表达 Fas 的细胞 DNA 呈现片段化。在研究矽肺的自身免疫机制时发现,矽肺患者外周血单核细胞 Fas 和 DcR3 基因表达上调,伴随血清 sFas 水平升高和淋巴细胞 mFas 表达下调;此外,检出了抗-caspase-8 和抗-Fas 自身抗体,抗-Fas 抗体可刺激 Fas 介导的细胞凋亡<sup>[29]</sup>。BALF 中高比率 CD4/CD8 阳性的石棉肺患者高表达 FasL,绝大多数淋巴细胞表达 Fas,这些细胞的凋亡率增高,反映了尘肺患者的局部免疫功能的改变<sup>[30]</sup>。

国外学者利用 Fas 等位基因突变鼠研究 Fas/FasL 介导的细胞凋亡在淋巴细胞稳态中的作用,消融了 T 细胞 Fas 基因后,有 Fas 活性的淋巴细胞 FasL 表达上调,外周淋巴细胞凋亡增加,Fas 基因缺陷鼠产生严重的淋巴细胞减少症。同时伴随炎症细胞因子增高和肺纤维化,突变鼠发生一种致命的白细胞浸润性疾病。在体外阻断 Fas/FasL 通路可完全阻止淋巴细胞的减少和淋巴细胞向肺组织渗透的启动<sup>[31]</sup>,DOSREIS 等<sup>[18]</sup>研究显示,在肺纤维化模型中,可通过干扰 Fas/FasL 的结合或抑制其下游的

caspases 活性来抑制肺纤维化的发展。

**1.3.1.5 Fas/FasL 信号通路介导产生的前炎症因子与肺纤维化** 粉尘进入人体后引起 AM 的呼吸爆发,合成和分泌 ROS、RNS、脂多糖、IL-2、TNF- $\alpha$ 、趋化因子等均可吸引中性粒细胞自血管外渗至肺泡腔;AM 表面 Fas 的聚集导致 IL-1 $\beta$  的分泌,IL-1 $\beta$  的分泌又引起趋化因子如巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ (macrophage inflammatory protein-1 alpha,MIP-1 $\alpha$ )、MIP-1 $\beta$ 、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1,MCP-1)、MCP-2、IL-8 等的分泌,这些因子均可吸引中性粒细胞外渗<sup>[32]</sup>。AM 在吞噬凋亡细胞时分泌 TGF- $\beta$  参与肺组织的修复与纤维化进程<sup>[33]</sup>。研究显示,IL-1 $\beta$  缺陷型小鼠很少发生尘肺<sup>[34]</sup>。体外实验中,FasL 能诱导支气管上皮分泌 IL-8,反之,IL-8 是 FasL 介导的凋亡所必需的,由此引起一系列炎症反应级联放大效应,从而导致肺纤维化<sup>[35]</sup>。博来霉素诱导的纤维化肺组织中 IL-12p40、IL-12R $\beta$ 2 和 FasL mRNA 表达增高,抗 IL-12 抗体能降低 IL-12R $\beta$ 2 和 FasL mRNA 的表达,使肺组织中凋亡细胞的数量减少、炎症反应和纤维化的程度降低<sup>[36]</sup>。另外,AM 产生 ROS 可刺激巨噬细胞系 IC221 产生 RNS,二者均参与细胞凋亡而介导尘肺的发生<sup>[37-38]</sup>,抗氧化剂可阻断由 Fas 抗体介导的细胞凋亡<sup>[39]</sup>。ROS 也可作为第 2 信使进一步促进细胞凋亡与纤维化的进程。因此,Fas/FasL 通路不仅介导细胞凋亡,而且具有诱导前炎症因子产生的作用。

**1.3.2 TNF- $\alpha$ /TNFR 信号通路介导的细胞凋亡在尘肺纤维化中的作用** TNF- $\alpha$  主要通过与其受体 TNFR 结合发挥作用,目前,已发现 TNFR1 和 TNFR2 2 种受体。TNFR1 在体内大多数细胞表面广泛分布,全长 426 个氨基酸,相对分子质量为 55 000。TNFR2 的表达主要局限在免疫细胞,由 439 个氨基酸组成,相对分子质量为 75 000。均由信号肽、胞外结构域、跨膜结构域及胞内结构域 4 部分组成。TNFR1 含死亡结构域,TNF- $\alpha$  与 TNFR1 结合后,形成可溶性 TNF- $\alpha$  三聚体,诱导产生具有死亡域的 TNFR1 相关蛋白 TRADD,TRADD 一方面可通过 FADD 导致细胞凋亡,一方面通过肿瘤坏死因子受体相关因子 2(TNF receptor associated factor 2,TRAF2)和受体相互作用蛋白(receptor-interacting protein,RIP)诱导 NF- $\kappa$ B 和激活蛋白(activator protein,API)的活化,参与抗凋亡。

不同于 TNFR1,TNFR2 的胞内区域不含 DD,只有在蛋白合成受阻的情况下才会诱导凋亡<sup>[40]</sup>。“Ligand-passing”机制认为 TNFR2 的胞内结构可以吸引 TNF- $\alpha$  形成三聚体激活 TNFR2 附近的 TNFR1

从而介导的细胞凋亡<sup>[41]</sup>。TNFR2 最主要的功能是通过激活 NF- $\kappa$ B 及 c-Jun 氨基端激酶/转录因子活化蛋白途径促进细胞的增殖。

用 20 mg · d<sup>-1</sup> 的重组可溶性 TNFR1 (P55) 干预博来霉素或二氧化硅诱导的肺纤维化, 15 d 后发现可预防二者导致的肺羟脯氨酸含量的增高, 干预 25 d 以上, 可降低肺组织胶原的含量<sup>[42]</sup>。P55、P75 (TNFR2) 2 个受体敲除后, 矽尘可上调 C57BL/6、BALB/c 和 129/J 小鼠 P75 而非 P55 的表达, 博来霉素可轻度上调 P75 和 P55 的表达, 或可见在 BALB/c 小鼠中有博来霉素抵抗<sup>[43]</sup>。在 BLM 诱发的鼠矽肺模型, 注入抗 TNF 抗体后肺部的胶原沉着明显减少, 肺纤维化程度减轻<sup>[44]</sup>。

研究同时发现, TNFR 在 AM 启动尘肺中具有一定的作用, 敲除 TNFR 小鼠染矽尘和石棉尘后不发生肺纤维化<sup>[42, 45]</sup>; 可溶性 sTNFR 和 TNF- $\alpha$  抗体可使 AM 表面游离的 TNF- $\alpha$  失去作用, 但不能加重或者减轻 AM 的损伤程度。PIGUET 等<sup>[46]</sup> 给染尘小鼠注射重组 TNF- $\alpha$  可增加肺内胶原蛋白沉积, 给予 sTNFR 或抗 TNF- $\alpha$  抗体, 胶原蛋白沉积则几乎能完全消失。

TNF- $\alpha$  与位于 AEC 表面的受体结合可介导细胞凋亡和细胞坏死。由于 TNF- $\alpha$  的毒性作用, 使 AEC 不断坏死、脱屑、再生, 导致肺纤维化的形成。TNF- $\alpha$  基因启动子区含有 NF- $\kappa$ B 位点, TNF- $\alpha$  本身能刺激 NF- $\kappa$ B 活化, 活化的 NF- $\kappa$ B 反过来又增加 TNF- $\alpha$  的形成, 二者的作用相辅相成<sup>[47]</sup>。在矽尘诱导肺纤维化过程中, 肺组织 NF- $\kappa$ B 表达增加同时伴随 TNF- $\alpha$ 、IL-6、干扰素- $\gamma$  (interference gama, IFN- $\gamma$ ) 等 mRNA 的升高<sup>[48]</sup>。矽尘可诱导 RAW264.7 型 AM 凋亡增加, 伴随 NF- $\kappa$ B 的活化和 TNF- $\alpha$  转录水平上调, 应用 NF- $\kappa$ B 活化抑制剂干预则可降低 TNF- $\alpha$  的表达<sup>[49]</sup>。表明 NF- $\kappa$ B 活性增强可能是肺纤维化的发生机制之一<sup>[50]</sup>。体外研究表明, TNF- $\alpha$  可诱导 A594 肺上皮细胞及 C57BL/6J 小鼠肺细胞表达 TRAF1 和 cIAP2 基因并上调其转录水平<sup>[51-52]</sup>; MKK4 基因敲除鼠 TNF- $\alpha$  诱导的凋亡增强与 TNF 诱导的细胞增殖周期蛋白及抗凋亡基因产物 IAP1、XIAP、cFLIP 下调有关, 且均与 NF- $\kappa$ B 的调节作用有关<sup>[53-54]</sup>。

这些事实说明, TNF- $\alpha$  在肺纤维化中作用是毫无疑问的, 作者的研究也证实尘肺患者 AM 凋亡中 TNF- $\alpha$ /TNFR/NF- $\kappa$ B 信号通路的双向调控作用<sup>[55]</sup>。

**1.3.3 TRAIL/TRAILR 信号通路介导的细胞凋亡在尘肺纤维化中的作用** TRAIL 最主要的生物学特点为选择性细胞毒作用<sup>[56]</sup>, 由于多种肿瘤细胞对

其诱导凋亡的能力非常敏感, 而多数正常细胞则抵抗这种作用<sup>[57-68]</sup>, 近年来 TRAIL/TRAILR 信号转导通路已成为研究的热点。不同于其他 TNF 家族成员, TRAIL 仅以膜结合型在体内存在。目前发现的 TRAIL 受体有 5 种, 分别是 TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4 和 护骨素 (osteoprotegerin, OPG), 其中 TRAIL-R1 和 TRAIL-R2 均含有死亡结构域并能向细胞内传递死亡信号, 当 DR4 和 DR5 与 DR 结合时可以诱导靶细胞凋亡; TRAIL-R3、TRAIL-R4、OPG 结构中不具有死亡结构域, 它们均作为 TRAIL 的拮抗剂负向调节 TRAIL 介导的凋亡信号转导, 从而保护细胞免遭 TRAIL 诱导的细胞凋亡<sup>[59]</sup>。在体外无论 mTRAIL 还是 sTRAIL, 都能迅速诱导表达 TRAIL 特异受体的细胞发生凋亡。

存在多种 TRAIL 受体的原因目前还不清楚, 但 DR 与 DcR 表达水平的平衡决定了 TRAIL 在凋亡中的效应。研究发现 TRAIL 缺陷鼠、sTRAIL 受体 (DR5) 或中和膜受体 mTRAIL 抗体均可抑制自身免疫性关节炎<sup>[60-61]</sup>, 在类风湿性关节炎中发现 TRAIL 既可刺激成纤维细胞样滑膜细胞增殖, 也可诱导其凋亡<sup>[62]</sup>。低剂量 TRAIL 体外可诱导人肺成纤维细胞表达 I 型胶原 mRNA, 分泌可溶性胶原<sup>[63]</sup>, 但没有研究其信号调控机制。本课题组研究表明, 煤工尘肺患者 AM 凋亡与 TRAIL/TRAILR2 信号通路激活存在关联<sup>[64-65]</sup>。

## 2 存在的问题及展望

DR 在 caspase 依赖性肺细胞凋亡启动尘肺中的作用研究尚处于起步阶段, 仅在体外和肺纤维化模型、DR 基因缺陷鼠中得到部分证实, 由于尘肺患者取材困难限制了其研究进展。而尘肺的发生是多种基因和多种信号通路调控、多种因素参与的、由多种细胞成分和细胞因子共同构成的网络协同作用的结果, 因此研究尘肺发病的细胞凋亡调控机制要考虑基因调控、促凋亡和抑凋亡因子的作用, 以及整体情况下神经内分泌的调控。

用 caspase 家族广谱抑制剂抑制 caspase 活化后仍有细胞凋亡, 说明除 caspase 家族外, 还有其他通路如线粒体通路、内质网应激、P53 通路以及氧化应激信号通路等诱导肺细胞凋亡, 各凋亡通路之间以及与肺纤维化的关系有待于进一步探讨。

目前我国尘肺病防治的瓶颈非常明显, 面对大量的尘肺病病例, 研究特效抗纤维化药物治疗尘肺病, 改善患者的生命质量已是摆在我们面前的重大课题, 如何找到有效控制肺纤维化发生发展的药物靶点, 结合细胞凋亡理论, 抑制凋亡信号转导, 开发

抗纤维化的靶点药物用于尘肺病治疗,有望成为尘肺临床治疗的新思路。

参考文献:

[1] 张雁林,赵金垣. 线粒体在尘肺发病机制中的作用概述[J/OL]. 中华临床医师杂志:电子版,2013,7(6):2667-2669. DOI: 10.3887/cma.j.issn.1674-0785.2013.03.124.

[2] 李德鸿. 我国尘肺防治工作50年[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,1999,17(5):258-261.

[3] KHALIL N,CHURG A,MULLER N,et al. Environmental, inhaled and ingested causes of pulmonary fibrosis[J]. *Toxicol Pathol*, 2007,35(1):86-96.

[4] WANG L,ANTONINI J M,ROJANASAKUL Y,et al. Potential role of apoptotic macrophages in pulmonary inflammation and fibrosis[J]. *J Cell Physiol*,2002,194(2):215-224.

[5] SMITH C A,FARRAH T,GOODWIN R G. The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation and death[J]. *Cell*,1994,76(6):959-962.

[6] ASHKENAZI A,DIXIT V M. Death receptors:signaling and modulation[J]. *Science*,1998,281(5381):1305-1308.

[7] WILSON N S,DIXIT V,ASHKENAZI A. Death receptor signal transducers:nodes of coordination in immune signaling networks[J]. *Nat Immunol*,2009,10(4):348-355.

[8] 刘文,黄文芳,卢贤瑜. 死亡受体信号传导途径研究进展[J]. 检验医学与临床,2006,3(9):445-447.

[9] MAGNUSSON C,VAUX D L. Signaling by CD95 and TNF receptors:not only life and death[J]. *Immunol Cell Biol*,1999,77(1):41-46.

[10] WATTS T H. TNF/TNFR family members in costimulation of T cell response[J]. *Annu Rev Immunol*,2005,23:23-68.

[11] 刘京梅,金伯泉. 肿瘤坏死因子受体超家族成员死亡受体在病毒感染中的作用[J]. 免疫学杂志,2005,21(3):S4-S7.

[12] AGGARWAL B B,SHISHODIA S,ASHIKAWA K,et al. The role of TNF and its family members in inflammation and cancer:lessons from gene deletion[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*,2002,1(4):327-341.

[13] KROEMER G,MARTIN S J. Caspase-independent cell death[J]. *Nat Med*,2005,11(7):725-730.

[14] PELLEGRINI M,BATH S,MARSDEN V S,et al. FADD and Caspases-8 are required for cytokine-induced proliferation of hemopoietic progenitor cells[J]. *Blood*,2005,106(5):1581-1589.

[15] DOMAGAŁA-KULAWIK J,DROSCZ P,KRASZEWSKA I,et al. Expression of Fas antigen in the cells from bronchoalveolar lavage fluid (BALF) [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2000,38(4):185-188.

[16] KUWAN O K,HAGMOTO N,KAWASAKI M,et al. Essential roles of the Fas/FasL ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis[J]. *Clinical Invest*,1999,104(1):13-19.

[17] HAGMOTO N,KUWAN O K,NOMOTO Y,et al. Apoptosis and expression of Fas/FasL ligand mRNA in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,1997,16(1):91-101.

[18] DOSREIS G A,BORGES V M,ZIN W A. The central role of Fas-ligand cell signaling in inflammatory lung diseases[J]. *J Cell Mol Med*,2004,8(3):285-293.

[19] WYNES M W,RICHES D W. Induction of macrophage insulin-like growth factor-I expression by the Th2 cytokines IL-4 and IL-13[J]. *J Immunol*,2003,171(7):3550-3559.

[20] DELGADO L,PARRA E R,CAPELOZZI V L. Apoptosis and extracellular matrix remodelling in human silicosis[J]. *Histopathology*,2006,49(3):283-589.

[21] YAO S Q,ROJANASAKUL L W,CHEN Z Y,et al. Fas/FasL pathway-mediated alveolar macrophage apoptosis involved in human silicosis[J]. *Apoptosis*,2011,16(12):1195-1204.

[22] YAO S Q,HE Q C,YUAN J X,et al. Role of Fas/FasL pathway mediated macrophage releasing inflammatory cytokines in human silicosis[J]. *Biomed Environ Sci*,2013,26(11):687-691.

[23] UHAL B D. Fas and apoptosis in the alveolar epithelium;holes in the dike[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*,2001,281(2):L326-L327.

[24] FUBINI B,HUBBARD A. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis[J]. *Free Radic Biol Med*,2003,34(12):1507-1516.

[25] GOLAN-GERSTL R,WALLACH-DAYAN S B,AMIR G,et al. Epithelial cell apoptosis by Fas ligand-positive myofibroblasts in lung fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,2007,36(3):270-275.

[26] 张法明. 细胞凋亡与肺纤维化关系研究新进展[J]. 中国临床保健杂志,2006,9(3):294-295.

[27] MATSUYAMA W,WATANABE M,SHIRAHAMA Y,et al. Discoidin domain receptor 1 contributes to the survival of lung fibroblast in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Pathol*,2006,168(3):866-877.

[28] HAMZAOUI A,AMMAR J,GRAÏRI H,et al. Expression of Fas antigen and Fas ligand in bronch alveolar lavage from silicosis patient[J]. *Mediators Inflamm*,2003,12(4):209-214.

[29] OTSUKI T,MIURA Y,NISHIMURA Y,et al. Alterations of Fas and Fas-related molecules in patients with silicosis[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*,2006,231(5):522-533.

[30] SZCZEKLIK J,TROJAN J,KOPINSKI P,et al. Apoptosis of bronchoalveolar lavage lymphocytes (L-BAL) in pneumoconiosis[J]. *Przegl Lek*,2004,61(4):235-240.

[31] HAO Z,HAMPEL B,YAGITA H,et al. T cell-specific ablation of Fas leads to Fas ligand-mediated lymphocyte depletion and inflammatory pulmonary fibrosis[J]. *J Exp Med*,2004,199(10):1355-1365.

[32] JIN Z,EL-DEIRY W S. Overview of cell death signaling pathways[J]. *Cancer Biol Ther*,2005,4(2):139-163.

[33] DOSREIS G A,BORGES V M. Role of Fas-ligand induced apoptosis in pulmonary inflammation and injury[J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*,2003,2(2):161-167.

[34] SRIVASTAVA K D,ROM W N,JAGIRDAR J,et al. Crucial role of interleukin-1 beta and nitric oxide synthase in silica-induced inflammation and apoptosis in mice[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2002,165(4):527-533.

[35] HAGIMOTO N,KUWANO K,KAWASAKI M,et al. Induction of interleukin-8 secretion and apoptosis in bronchiolar epithelial cells by Fas ligation[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,1999,21

- (3):436-445.
- [36] MAEYAMA T, KUWANO K, KAWASAKI M, *et al.* Attenuation of bleomycin-induced pneumopathy in mice by monoclonal antibody to interleukin-12[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 280(6):L1128-L1137.
- [37] SRIVASTAVA K D, ROM W N, JAGIRDAR J, *et al.* Crucial role of interleukin- $\beta$ 1 and nitric oxide synthase in silica-induced inflammation and apoptosis in mice[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(4):527-533.
- [38] SHEN H M, ZHANG Z, ZHANG Q F, *et al.* Reactive oxygen species and caspase activation mediate silica-induced apoptosis in alveolar macrophages[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 280(1):L10-L17.
- [39] MORIMOTO K, AMANO H, SONODA F, *et al.* Alveolar macrophages that phagocytose apoptosis neutrophils produce hepatocyte growth factor during bacterial pneumonia in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, 24(5):608-615.
- [40] GRELL M, ZIMMERMANN G, HÜLSER D, *et al.* TNF receptors TR60 and TR80 can mediate apoptosis via induction of distinct signal pathways[J]. *J Immunol*, 1994, 153(5):1963-1972.
- [41] TARTAGLIA L A, ROTHE M, HU Y F, *et al.* Tumor necrosis factor's cytotoxic activity is signaled by the P55 TNF receptor[J]. *Cell*, 1993, 73(2):213-216.
- [42] PIGUET P F, VESIN C. Treatment by human recombinant soluble TNF receptor of pulmonary fibrosis induced by bleomycin or silica in mice[J]. *Eur Respir J*, 1994, 7(3):515-518.
- [43] ORTIZ LA, LASKY J, LUNGARELLA G, *et al.* Upregulation of the P75 but not the P55 sTNF- $\alpha$  receptor mRNA after silicon and bleomycin exposure and protection inform lung injury in double receptor knock out mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 20(4):825-833.
- [44] 陈晓玲, 黄善生, 李文斌, 等. 大鼠肺纤维化形成中肺巨噬细胞增殖和凋亡的变化[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(3):433-436.
- [45] LIU J Y, BRASS D M, HOYLE G W. TNF- $\alpha$  receptor knock-out mice are protected from the fibroproliferative effects of inhaled asbestos fibers[J]. *Am J Pathol*, 1998, 153(6):1839-1847.
- [46] PIGUET P F, VESIN C. Treatment by human recombinant soluble TNF receptor of pulmonary fibrosis induced by bleomycin or silica in mice[J]. *Eur Respir J*, 1994, 7(3):515-518.
- [47] SCHWARTZ M D, MOORE E E, MOORE F A, *et al.* Nuclear factor- $\kappa$ B is activated in alveolar macrophages from patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *Crit Care Med*, 1996, 24(8):1285-1292.
- [48] HUBBARD A K, TIMBLIN C R, SHUKLA A, *et al.* Activation of NF- $\kappa$ B dependent gene expression by silica in lungs of luciferase reporter mice[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(5):1968-1975.
- [49] GOZAL E, ORTIZ LA, ZOU X, *et al.* Silica-induced apoptosis in murine macrophage involvement of tumor necrosis factor- $\alpha$  and nuclear factor- $\kappa$ B activation[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, 27(1):91-98.
- [50] 刘诗权, 于皆平, 贺磊, 等. 核因子  $\kappa$ B 和转化生长因子  $\beta_1$  在银杏叶提取物抗肝纤维化中的作用[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(12):903-907.
- [51] CHIPUK J E, GREEN D R. Do inducers of apoptosis trigger caspase-independent cell death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6(3):268-275.
- [52] PRYHUBER G S, HUYCK H L, STAVERSKEY R J, *et al.* Tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced lung cell expression of antiapoptotic genes TRAF1 and cIAP2[J]. *Am J Respir Cell Mol*, 2000, 22(2):150-156.
- [53] LEIST M, JAATTELA M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2(8):589-598.
- [54] SETHI G, AHN K S, XIA D, *et al.* Targeted deletion of MKK4 gene potentiates TNF-induced apoptosis through the down-regulation of NF- $\kappa$ B activation and NF- $\kappa$ B-regulated antiapoptotic gene products[J]. *J Immunol*, 2007, 179(3):1926-1933.
- [55] 余艳琴, 姚三巧, 白玉萍, 等. 尘肺患者肺泡巨噬细胞凋亡及其死亡信号调控机制研究[J]. 中国职业医学, 2010, 37(2):99-103.
- [56] 鄂长勇, 李航, 吕国悦, 等. 死亡受体 DR4, DR5 与 TRAIL 调控细胞凋亡的研究进展[J]. 吉林医学, 2008, 29(3):259-261.
- [57] SECCHIERO P, VACCAREZZA M, GONELLI A, *et al.* TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): a potential candidate for combined treatment of hematological malignancies[J]. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(29):3673-3681.
- [58] SMYTH M J, TAKEDA K, HAYAKAWA Y, *et al.* Nature's TRAIL-on a path to cancer immunotherapy[J]. *Immunity*, 2003, 18(1):1-6.
- [59] BOURALEXIS S, FINDLAY D M, EVDOKIOU A. Death to the bad guys: targeting cancer via Apo2L/TRAIL[J]. *Apoptosis*, 2005, 10(1):35-51.
- [60] LAMHAMED-CHERRADI S E, ZHENG S J, MAGUSCHAK K A, *et al.* Defective thymocyte apoptosis and accelerated autoimmune diseases in TRAIL $^{-/-}$  mice[J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(3):255-260.
- [61] SONG K, CHEN Y, GOKE R, *et al.* Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is an inhibitor of autoimmune inflammation and cell cycle progression[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(7):1095-1104.
- [62] YUROVSKY V V. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand enhances collagen production by human lung fibroblast[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 28(2):225-231.
- [63] 张毅, 郭瀛军. Annexin B1: 一种新的细胞凋亡检测用蛋白[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(3):333-334.
- [64] 张春民, 白玉萍, 余艳琴, 等. 凋亡相关蛋白 DR5, Caspase-3 和 Caspase-8 在煤工尘肺发生发展中的意义[J]. 中国职业医学, 2011, 38(5):365-368.
- [65] 张春民, 白玉萍, 余艳琴, 等. TRAIL 及其受体对煤工尘肺患者肺泡巨噬细胞凋亡调控作用[J]. 中国职业医学, 2015, 42(1):1-6.