

P38 信号通路在肝脏缺血再灌注损伤中作用的研究进展

张海燕, 黄汉飞, 曾 仲

(昆明医科大学第一附属医院器官移植中心, 云南 昆明 650032)

[摘要] 肝脏缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI) 是临床上一种较为常见的病理生理现象, 也是目前肝脏外科及肝移植临床研究的难点和热点问题, p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 在多种疾病和应激条件下被大量激活, p38 信号传导途径的激活是导致肝脏缺血再灌注损伤的重要机制之一, 就近年来有关 p38 信号通路在肝脏缺血再灌注损伤中的作用及机制研究进行综述.

[关键词] p38; 肝脏; 缺血再灌注损伤

[中图分类号] R575 [文献标识码] A [文章编号] 2095 - 610X (2014) 02 - 0145 - 04

The Research Progress of P38 Signaling Pathway in Liver Ischemia Reperfusion Injury

ZHANG Hai - yan, HUANG Han - fei, ZENG Zhong

(Organ Transplantation Center, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] Hepatic ischemia-reperfusion injury, a relatively common phenomenon in clinical pathophysiology, is one of the currently difficult and hot issues in liver surgery and liver transplantation clinical studies. p38 mitogen activated protein kinases are activated in a variety of diseases and stress conditions. p38 signaling pathway activation is one of the important mechanisms leading to hepatic ischemia-reperfusion injury. This article reviews the roles and mechanisms of P38 signaling pathway recently years in the liver ischemia reperfusion injury.

[Key words] p38; liver; ischemia reperfusion injury

缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI) 由 1960 年 Jennings 首先提出, 是指组织器官缺血后再灌注不仅不能使组织器官功能恢复, 反而加重组织器官的功能障碍和结构损伤^[1]. 肝脏缺血再灌注损伤 (HIRI) 是肝脏外科手术中常见的病理过程, 多见于休克、需要阻断肝脏血流的肝外科手术以及肝移植术等病理生理过程中. 其发生的病理生理机制复杂, 有诸多因素参与其中, 形成相互制约和相互促进的关系^[2]. 肝脏手术中阻断血流不可避免诱发缺血再灌注损伤, 严重影响预后, 在肝脏缺血再灌注损伤中, 许多因子和信号通路参与其中, p38 是应激激活 MAPK 家族成员之一, 将细胞外刺激传导至细胞内信号通路过程中起重要作用.

p38 信号传导途径的激活是导致肝脏缺血再灌注损伤的重要机制之一, 现就近年来有关 p38 信号通路在肝脏缺血再灌注损伤中作用及机制的研究进展综述如下.

1 p38 信号通路概述

1.1 p38 分子的基本结构与分布

Brewster 等^[3,4]于 1993 年首次发现 p38MAPK 由 360 个氨基酸组成相对分子质量为 38kD 的蛋白, 与 JNK 同属应激激活的蛋白激酶. 目前已克隆出 6 种 p38MAPK 亚型. p38MAPK 的异构体有 6 个, 即 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 δ 及 γ 异构体, 不同异

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81360079)

[作者简介] 张海燕 (1974~) 女, 云南昆明市人, 医学硕士, 主管护师, 主要从事护理临床工作.

[通讯作者] 曾仲. E-mail: zong@medmail.com.cn

构体的分布具有组织特异性. 其分布具有组织特异性表现为: p38 α 在各种组织细胞中广泛存在, p38 β 在脑组织中含量最丰富, p38 γ 异构体仅存在于骨骼肌细胞中, 而 p38 δ 主要存在于腺体组织(多见于睾丸、胰腺及前列腺等处)^[5]. 研究发现 p38 β 在未受刺激的单核细胞中, 主要散在分布于胞质中, 胞核区也有一定的分布, 在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激后, p38 β 则进入细胞核, 作用于相应的转录因子调控多种炎症相关基因的表达; p38 γ 则位于胞质中, 在 LPS 刺激后无移位现象, 这提示 p38 γ 有可能作用于胞质中的其他酶类如 MAPKAPK2/3 和 PRAK 等; p38 δ 静息细胞中主要分布于胞质中, 受 LPS 刺激后移位于胞膜区. 这 4 种 p38 亚型在 LPS 刺激后移位表现不同可能与它们在组织和细胞中分布的特异性及作用途径有关. 各亚型有许多相似之处, 不同 p38MAPK 的异构体对同一刺激有不同反应, 不同的 p38MAPK 信号通路在不同细胞中介导不同的生物效应^[6].

1.2 p38 信号通路的激活

p38 是 MAPK 家族成员之一, 最早从细胞浆中提取出来, 在受到理化因素(紫外线、渗透压、高热、活性氧)、生物因素(细菌病原体及其产物)、致炎性细胞因子(肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1)等刺激时发生酪氨酸磷酸化而被激活^[7]. p38MAPK 通路可被应激刺激(紫外线、热休克、内毒素和缺氧等)、炎性因子、LPS 和革兰氏阳性细菌细胞壁成分而激活, 导致炎症级联放大, 损伤细胞. MAPK 家族激酶的活化均需酪氨酸和苏氨酸的双磷酸化, 酪氨酸和苏氨酸常组成三肽序列“T-X-Y”, 称为三肽基, 位于 LinkerL12 磷酸化环状结构上^[8]. p38MAPK 的激活也通过 linker12 磷酸化环状结构上的三肽基“T-X-Y”中邻近的酪氨酸和苏氨酸磷酸化来完成. p38MAPK 具有这样的“T-X-Y”三肽序列, 且在 linker12 部位比 Ras/ERK, JNK/SAPK 少 6 个氨基酸, 提示 p38MAPK 分子的磷酸化有别于其它通路. 细胞静息状态下 p38MAPK 位于胞浆中, 一旦被激活, 将迅速转运到细胞核内, 作用于相应靶位.

1.3 p38 信号通路的阻断与灭活

p38 的特异性抑制剂是吡咯咪唑类复合物, 如 SB206718、SB220025、SB202190、SB203580 和 VK199 等, 不同的抑制剂可特异抑制 p38MAPK 家族中不同的成员. MAPK 的灭活由一组双特异性蛋白磷酸酶(MKPs)对苏氨酸和酪氨酸的去磷酸化

作用恢复基态. 目前已知的 MKPs 包括: MKP1-5、PAC1、hVH2、hVH 和 Pyst1, 其中 MKP-1 和 MKP-5 是 p38MAPK 及 JNK 的特异性磷酸酶^[9]. 有时 MAPK 的灭活并不依赖于双特异性磷酸酶, 蛋白磷酸酶 2A (PP2A) 是 ERK 灭活的限速酶, 同时可下调 MEK 的活性, 由于 PP2A 主要位于胞质中, 因此它主要灭活胞质中的 p38MAPK^[10]. SB203580 是 p38MAPK 激酶的抑制剂, 能够特异性地与两种序列非常相近的蛋白质结合并抑制其活性, 从而有效地抑制单核细胞产生炎性细胞因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-1 (IL-1) 等^[11].

2 肝脏缺血再灌注损伤的研究

肝脏缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI) 早已不为医学工作者陌生, 由多种病理生理学机制引起, 导致氧自由基、细胞因子、粘附分子和血管活性物质增加, 而一氧化氮(NO)、前列腺素(PG)和其他具有细胞保护作用的物质减少^[12], 肝细胞通过坏死和凋亡途径发生细胞死亡^[13]. 美国阿肯色州大学的 Jaeschke H 博士指出, 对于需要夹闭肝血管蒂的肝脏手术和肝移植术, 缺血再灌注损伤是患者的主要并发症原因之一^[14], 因此如何减轻肝脏缺血再灌注损伤是目前肝脏外科的研究热点. 从上世纪 80 年代开始, 人们开始寻找能减轻 IRI 的途径和方法, 现报道的具有保护缺血再灌注损伤的方式有缺血预处理、药物预处理和缺血后处理等, 但由于均存在一定的缺陷和不足, 未能在临床上得到广泛应用.

随着分子生物学的发展以及对肝脏内皮细胞在缺血再灌注损伤中的认识, 调整目标基因的表达或向体内转导相关基因可以减轻缺血再灌注损伤. 改良的重组体可在肝脏中产生目的基因的持久高表达, 这也给基因靶向治疗肝脏缺血再灌注损伤提供了可能的应用前景. 为了抑制活性氧的产生增加, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶由腺病毒或脂质体成功转染, 标志着缺血再灌注损伤基因治疗成为现实. 已有研究通过基因导入使 Bag-1 和 Bcl-2 高表达抑制细胞凋亡^[15], 降低 ICAM-1 的表达抑制中性粒细胞聚集和活化^[16], 导入细胞保护基因如: 血红素氧合酶-1 (HO-1)、白介素-13 (IL-13) 和白介素-1 受体拮抗剂 (IL-1Ra) 等. 总之, 随着分子生物学和基因技术等领域的深入研究, 为肝脏缺血再灌注损伤的防治开辟了新的途径.

3 p38 在肝脏缺血再灌注损伤 (HIRI) 中的作用及机制

p38MAPK 是应激激活 MAPK 家族成员之一, 在把细胞外刺激转导到胞内信号通路中起重要作用^[17]。研究表明 p38MAPK 分子主要分布于细胞质中, 激活后可以转位到细胞核内, 进而影响细胞增殖、分化、转化及凋亡等生物性行为, 参与了炎症、应激、细胞周期调控等病理生理过程^[18]。在正常肝组织中 p38 即有一定的基础活性, 经冷保存后有一定升高, 再灌注 10 min 时达到峰值, 然后逐渐下降, 至再灌注 120 min 时降低至正常水平。在冷保存液中加入 p38MAPK 抑制剂 SB202190 后, 再灌注期间 p38 MAPK 的活性受到显著抑制, 能够使离体肝脏于再灌注期间损伤程度明显降低, 提示缺血再灌注期间 p38 信号转导途径的激活与离体肝脏缺血再灌注损伤密切相关^[19]。

在肝移植及部分肝叶切除术过程中, 肝脏不可避免的要经历缺血再灌注过程, 在此期间存在诸多应激因子。研究发现磷酸化 p38 的表达及活性在此期间有显著变化, 正常肝组织中磷酸化的 p38 有一定的基础表达及活性, 经冷保存后离体肝脏内 p38 磷酸化及活性水平有一定程度升高, 冷保存对离体肝脏 p38 磷酸化及活性有明显影响。有研究报道缺氧导致的磷酸化 p38 激活在肝脏内 15 min 达到高峰, 诱导产生大量炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 等, 加重肝细胞损伤^[20]。在使用 p38 抑制剂组, 肝脏的损伤程度、炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 均较未使用组明显降低, 提示 p38 可能是调节 TNF- α 、IL-1 等炎症细胞因子产生的上游机制。

4 展望

外科实践中 HIRI 是很常见的病理生理过程, 因此, 有关其机制及治疗策略的研究对于临床工作十分重要, 预防 HIRI 的措施有药物预防, 缺血预处理, 热休克预处理, 缺血后处理等。目前关于 HIRI 的机制研究为防治研究已取得了一定的成果, 但仍有许多未知的因素需要进一步的研究和探索, p38 MAPK 参与了引起多种细胞反应的胞内信号传递途径, 在炎症细胞介质生成、细胞生长、分化、增殖、凋亡等过程中起重要作用。因此, 对这一领域广泛而深入的研究, 将为我们找到更为有效的减轻 HIRI 的方法, 对外科的实践起到积极的作用。

[参考文献]

- [1] 张成才, 毕旭东. 肝脏缺血再灌注损伤发生机制中信号转导的研究进展 [J]. 中原医刊, 2008, 35(4):66-67.
- [2] ZENG Z, HUANG H F, CHEN M Q, et al. Postconditioning prevents ischemia/reperfusion injury in rat liver transplantation [J]. Hepatogastroenterology, 2010, 57(101): 875-881.
- [3] BREWSTER J L, VALOIR T, DWYER N D, et al. An osmosensing signal transduction pathway in yeast [J]. Science, 1993, 259(5 102): 1 760-1 763.
- [4] HART J, LEE JD, BIBBS I, et al. A MAP Kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells [J]. Science, 1994, 265(5 173): 808-811.
- [5] MORAZZANI M, CARVALHO D D, KOVACIC H. Monolayer versus aggregate balance in survival process for EGF-induced apoptosis in A431 carcinoma cells; Implication of ROS-P38MAPK-integrin alpha2beta1 pathway [J]. Int J Cancer, 2004, 110(6): 788-799.
- [6] 张涛, 杨承祥, 王汉兵. p38 MAPK 信号通路与疼痛的关系 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2012, 18, (3):177.
- [7] 黄燕君, 刘振华, 谢惠芳. P38MAPK 信号转导通路与血管细胞增殖及缺血再灌注的关系 [J]. 中华神经医学杂志, 2011, 10(8):856-858.
- [8] 熊昌艳, 张荆, 官大威, 等. P38MAPK 信号转导通路和组织损伤 [J]. 中国法医学杂志, 2008, 23(6):397-400.
- [9] OBATA T, BROWN G E, YAFFE M B. MAP kinase pathways activated by stress: the p38MAPK pathway [J]. Crit Care Med, 2000, 28(1):67-77.
- [10] RAVANTI L, TORISEVA M, PENTTINEN R, et al. Expression of human collagenase-3 (MMP-13) by fetal skin fibroblasts is induced by transforming growth factor beta via p38 mitogen-activated protein kinase [J]. FASEB J, 2001, 15(6):1 098-1 100.
- [11] UNDERWOOD D C, OSBOM R R, KOTZER C J, et al. SB 239063, a potent p38 MAP kinase inhibitor, reduces inflammatory cytokine production, airways eosinophil infiltration, and persistence [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2000, 293(1):281-288.
- [12] MONTALVO-JAVE E E, ESCALANTE-TATTERSFIELD T, ORTEGA-SALGADO JA et al. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury [J]. J Surg Res, 2008, 147(1): 153-159.
- [13] MALHI H, GORES G J, LEMASTERS J J. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths [J]. Hepatology, 2006. 43(2 Suppl 1):S31-S44.

(下转第 151 页)

- 524 – 529.
- [6] SILVIO VARON, CONNER J M. Nerve growth factor in CNS repair [J]. *Journal of Neurotrauma*, 1994, 11 (5): 473 – 486.
- [7] ANTON E S, WESKAMP G, REICHARDT L F, et al. Nerve growth factor and its low affinity receptor promote Schwann cell migration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91 (7): 2795 – 2799.
- [8] BOISSIERE. Lysine 63 Polyubiquitination of the nerve growth factor receptor trkA directs internalization and signaling [J]. *Molecular Cell*, 2005, 20(2): 301 – 312.
- [9] SHERRI L, RANKIN, CLIFFORD S. TrkA NGF receptor plays a role in the modulation of p75NTR expression [J]. *Neuroscience Letters*, 2005, 383(3): 305 – 310.
- [10] SCHOR N F. The p75 neurotrophin receptor in human development and disease [J]. *Progress in Neurobiology*, 2005, 77(3): 201 – 214.
- [11] 栗佐, 马波, 周正, 等. 血脑屏障对碱性成纤维细胞因子通透性的实验研究 [J]. *中国新生儿科杂志*, 1999, 14(3): 116 – 117.
- [12] 汤泽中, 虞人杰. 缺氧缺血性脑细胞凋亡的干预治疗 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2000, 15(6): 375 – 376.
- [13] 于肇英. 神经生长因子的研究 [J]. *生理科学进展*, 1988, 19(3): 226 – 227.
- [14] HEUNG M W, ELLISON B, SEAN F. Nerve growth factor and corneal wound healing in dogs [J]. *Experimental Eye Research*, 2002, 80(5): 633 – 642.
- [15] ROSENGART T K, KUPERSCHMID J P, MACIAG T, et al. Pharmacokinetics and distribution of heparin-binding growth factor in the rat [J]. *Circulation Research*, 1989, 64 (2): 227 – 234.
- [16] CUEVAS P, GIRNENE Z, GALLEGO G. Antiepileptic effects of acidic fibroblast growth factor examined in kainic acid mediated seizures in the rat [J]. *Neuroscience Letters*, 1996, 203(1): 66 – 68.
- [17] FELIX SCHLACHETZKI, CHUNNI ZHU, WILLIAM M. PARDRIDGE. Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) at the blood-brain barrier [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2002, 81(1): 203 – 206.
- [18] 崔秀玉, 吕国蔚. 脑缺血和脑缺氧适应时能量代谢变化 [J]. *首都医科大学学报*, 1996, 17(2): 153 – 155.
- [19] 李学峰, 邱平明, 金贺, 等. 甲基苯丙胺对相关脑区的神经毒性作用 [J]. *解剖学杂志*, 2007, 30(1): 63 – 65.
- [20] AKBARIAN S, BATES B, LIU R J, et al. Neurotrophin-3 modulates noradrenergic neuron function and opiate withdrawal [J]. *Mol Psychiatry*, 2001, 6(5): 593 – 604.
- [21] ZOUBAA S, KONRAD R, PIONTEK G, et al. Inhibition of NGF-induced neurite outgrowth of rat pheochromocytoma cells (PC12) following administration of dioxamphetamine [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 476(3): 113 – 118.

(2013 – 12 – 14 收稿)

(上接第 147 页)

- [14] JAESCHKE H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284(1): G15 – G26.
- [15] SELZNER N, RUDIGER H, GRAF R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver [J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(3): 917 – 936.
- [16] SONNENDAY C J, WARREN D S, COOKE S K, et al. A novel chimeric ribozyme vector produces potent inhibition of ICAM-1 expression on ischemic vascular endothelium [J]. *J Gene Med*, 2004, 6(12): 1394 – 1402.
- [17] LI Q, HAN L P, LI Z H, et al. Salvianolic acid B alleviates the disruption of blood-brain barrier in rats after cerebral ischemia-reperfusion by inhibiting MAPK pathway [J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2010, 45(12): 1485 – 1490.
- [18] 赵鸽, 陈正春, 申新, 等. P38MAPK 信号通路在瑞芬太尼或缺血预处理减轻大鼠肝脏缺血再灌注损伤中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(1): 99 – 102.
- [19] 王雨, 田伏洲, 汤礼军, 等. 离体肝脏冷保存再灌注期间 p38MAPK 的表达与活性变化规律 [J]. *中华外科杂志*, 2002, 40(11): 879.
- [20] CHEN T H, CHANG C F, YU S C, et al. Dipyridamole inhibits cobalt chloride-induced osteopontin expression in NRK52E cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 613(1–3): 8 – 10.

(2014 – 01 – 02 收稿)