

内质网应激与肝脏损伤的治疗

黄 啸¹, 周植星², 段为钢³, 江振洲^{1,4}, 孙丽新^{1,5}, 张陆勇^{1*}

1. 中国药科大学 江苏省新药筛选中心, 江苏 南京 210009
2. 天津药物研究院 天津市新药设计与发现重点实验室, 天津 300193
3. 云南中医学院 中医药分子生物学重点实验室, 云南 昆明 650500
4. 中国药科大学 药物质量与安全预警教育部重点实验室, 江苏 南京 210009
5. 中国药科大学 江苏省药效研究与评价服务中心, 江苏 南京 210009

摘 要: 内质网应激是一种细胞自我保护性机制的信号反应通路系统, 参与许多疾病的生理病理过程。内质网应激参与多种肝脏损伤的发生与发展, 包括免疫性肝损伤、病毒性肝损伤、中毒性肝损伤、脂肪性肝损伤等。以内质网应激为切入点, 深入探讨内质网应激的分子机制、作用功能, 以及内质网应激与各种肝损伤之间的关系。结合临床药物的作用机制, 内质网应激可能成为治疗肝脏损伤相关疾病的新靶点。

关键词: 内质网应激; 肝脏损伤; 肝病治疗; 新药研发; 靶点

中图分类号: R961 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)03-0168-06

Endoplasmic reticulum stress involved in the treatments of liver injury

HUANG Xiao¹, ZHOU Zhi-xing², DUAN Wei-gang³, JIANG Zhen-zhou^{1,4}, SUN Li-xin^{1,5}, ZHANG Lu-yong¹

1. Jiangsu Center for Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China
2. Tianjin Key Laboratory of Molecular Design and Drug Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. Key Laboratory of Molecular Biology for Sinomedicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming, 650500, China
4. Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China
5. Jiangsu Center for Pharmacodynamic Research and Evaluation, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract: Endoplasmic reticulum stress (ERS) is a self-protecting regulation system, which is involved in various physiological and pathological conditions. It is reported that ERS contributes to the occurrence and development of liver injury, including immunological liver injury, viral hepatitis, hepatic adipose infiltration, and hepatotoxicity, and so on. This review is about the mechanism of ERS on hepatocytes in the pathogenesis of a variety of liver injuries. Combining with the clinical studies, ERS might be a novel therapeutic target in liver injury-related disease.

Key words: endoplasmic reticulum stress (ERS); liver injury; hepatopathy treatment; new drugs development; target

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是细胞质中重要的膜性网状细胞器, 广泛存在于真核细胞中。ER 膜系统是细胞加工蛋白质、脂质和贮存钙离子的主要场所, 蛋白质必须在 ER 腔内被正确地构象和修饰, 才能被转运到高尔基体内进一步装配。如果未折叠或错误折叠的异常蛋白聚集在 ER 内, 可干扰 ER 的功能和细胞生存。ER 不仅是物质合成和运输的重要场所, 同时也是细胞内其他膜性细胞器

的重要来源, 处于内膜系统的中心地位。

ER 功能正常是细胞存活的必要条件。ER 膜系统的重要功能之一就是负责合成分泌到细胞外或是定位到细胞膜、线粒体和溶酶体等细胞器的分泌蛋白、膜蛋白和驻留蛋白。无论是正常的生理变化还是细胞的环境适应, 蛋白质产生表达量的调整变化, 大部分都要通过 ER 来实现。在缺氧、饥饿、药物、病毒感染、自由基侵袭和钙离子平衡失调等刺激下,

收稿日期: 2011-02-10

基金项目: “十一五”科技重大专项 (2009ZX09302-002); 中医药行业科研专项 (200707008); 中央高校基本科研业务费专项资金 (ZJ10115)

作者简介: 黄 啸 (1986—), 女, 硕士研究生, 主要从事分子药理学研究。E-mail: huangxiao-33@163.com

*通讯作者 张陆勇, 男, 博士生导师, 主要从事分子药理学研究。E-mail: lyzhang@cpu.edu.cn

ER的正常功能和秩序被打乱,蛋白质被错误折叠,大量未折叠蛋白(unfolded protein, UP)积聚在ER中,促使ER启动应急机制来缓解UP压力,这个过程称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)。

一定程度的ERS可以促进ER功能恢复,减少细胞功能损害,保护细胞正常的功能。但ERS持续存在或过强时,将诱导ERS相关性细胞反应,造成组织损伤。近年来研究发现,ERS与心脑血管、神经系统、代谢紊乱等多种疾病都有密切的关系。本文拟以ERS与肝脏损伤的联系为切入点,综述ERS的反应机制、分子基础,及其与治疗肝脏损伤的关系,以期为肝病治疗药物研发提供新思路。

1 内质网应激的反应机制

ER膜上有3种ER跨膜受体感应蛋白,分别是肌醇依赖酶1(inositol requiring enzyme 1, Ire1)、RNA激活蛋白激酶的ER类似激酶(pancreatic eIF2 kinase pancreatic ER kinase, PERK)和激活转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)。

在静息细胞里,ERS受体通过与ER分子伴侣GRP78/BiP结合而处于未激活状态。一旦大量UP聚集,GRP78/BiP便与这3个受体解离,去结合异常的蛋白。而膜受体蛋白解离后发生专属激活通路,Ire1和PERK发生二聚化与自身磷酸化,当ATF6从ER膜转运到高尔基体后经特异蛋白酶裂解形成激活的ATF6,从而触发未折叠蛋白反应(unfolded protein reaction, UPR)。

迄今为止,已经证实有4个不同的ERS反应阶段,并表现出时间的依从性^[1]。1)阶段I:蛋白质翻译抑制(translational attenuation)途径。激活的PERK使真核翻译起始因子2 α (eukaryotic initiation factor 2 α , eIF2 α)磷酸化,阻止起始蛋氨酸tRNA与核糖体的结合,从而降低蛋白翻译水平,减轻ER内新生蛋白质的负担^[2]。当GRP78/BiP重新结合到PERK和eIF2 α 去磷酸化后,则ERS的第一个反应阶段即被终止。2)阶段II:ERS相关基因的激活(transcription induction)途径。活化的Ire1对X盒结合蛋白1(X-box binding protein-1, XBP-1)mRNA进行选择性剪切,去除小段序列使其激活^[3]。激活的XBP-1和在高尔基体剪切的ATF6活化片段转位入核,诱导应激蛋白表达。这些蛋白有助于促进错误折叠和UP恢复正常构象,维持ER内Ca²⁺依赖性蛋白修饰反应,减轻UPR以保护细胞,增强蛋白

折叠能力。3)阶段III:ER相关降解(ER associated degradation)途径。反应阶段II结束后,ER中未折叠或错误折叠蛋白通过ER质量控制系统检测,从ER逆向转运至细胞质,被胞质中的泛素-蛋白酶体系统降解。4)阶段IV:细胞凋亡途径。当ERS反应过于严重或长时间以至于不能恢复ER的功能,则激活了凋亡途径,以去除损伤的细胞。

2 内质网应激的分子基础

2.1 Ire1-XBP-1 通路

哺乳动物细胞Ire1家族包括两种ER驻留蛋白Ire1 α 和Ire1 β 。Ire1 α 在各种细胞中普遍存在,而Ire1 β 主要存在于消化道上皮细胞。Ire1是一个ER I型跨膜糖蛋白,在胞内段具有激酶活性和RNA酶活性。ERS能导致Ire1活化,N端和Bip分离,C端具有核酸内切酶活性,能特异性地剪接转录因子XBP-1 mRNA去除26 bp组成的片断,使其成为成熟的mRNA,进入细胞核结合UPR靶基因。UPR靶基因含有保守的顺式作用元件(ER stress response element, ERSE),由19 bp碱基CCAAT-N9-CCACG(N9为9个任意碱基)组成。当ERSE结合活化的XBP-1或ATF6,同时CCAAT结合非特异性转录因子NF-Y,才能上调靶基因表达,包括增强分子伴侣蛋白Bip等的转录活性。

2.2 PERK-eIF2 α 通路

PERK属于eIF2 α 蛋白激酶家族成员,与Ire1 α 相似,是位于ER的I型膜蛋白,N端感受应激信号,存在于非配体依赖性的二聚化结构域。静息状态下二聚化位点被Bip遮盖,C端有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶功能域,但无核酸内切酶活性。

ERS时,PERK可以迅速识别蛋白质合成的起始因子eIF2 α ,并磷酸化eIF2 α 上的51位丝氨酸。eIF2 α 磷酸化后,使翻译起始复合物不能结合葡萄糖基转移酶,能抑制翻译起始复合物中二磷酸鸟苷(GDP)与三磷酸鸟苷(GTP)的交换,从而迅速地减少细胞内大部分蛋白质mRNA的翻译,减少新合成的多肽进入ER腔内^[4],抑制ER的翻译与合成以减轻负荷。

PERK活化后,通过磷酸化的eIF2 α 可以诱导转录因子ATF4及其下游基因的表达,促进细胞对ERS的适应。PERK影响Nrf2通路,可引起氧化应激^[5]。PERK还能特异性地阻滞细胞周期素D1(cyclin D1)的翻译表达,从而导致细胞周期的停滞。

2.3 ATF6 通路

与 Ire1、PERK 不同的是, ATF6 是位于 ER 的 II 型膜蛋白。哺乳动物细胞具有两种 ATF6 亚型即 ATF6 α 和 ATF6 β , 两者结构相似, 均为 H 型跨膜蛋白, 并且通过相同的机制活化。N 端含有亮氨酸链 bZIP 的转录激活功能域, C 端位于 ER 腔内, 具有多个 Bip 结合位点和 2 个高尔基体定位信号。静息状态下, ATF6 和 Bip 形成稳定的复合物。ER 腔内 UP 堆积信息能够使 Bip 和 ATF6 分离, 导致 ATF6 转移到高尔基体内, 由高尔基体蛋白酶 S1P

及 S2P 对其跨膜片断进行切割, 产生游离的 N 端片段。活化的 ATF6 N 端裂解片段可以转移到细胞核内, 促进含 ERSE 转录因子的 UPR 靶分子基因转录。

3 内质网应激与肝脏损伤的治疗

研究表明, ERS 与机体的多种疾病密切相关, 如糖尿病、心血管疾病、神经系统疾病和各种肝病等。ERS 反应涉及几乎所有肝脏疾病, 包括免疫性肝损伤、病毒性肝损伤、脂肪性肝损伤和中毒性肝损伤 (表 1) [6-20]。

表 1 ERS 参与多种类型的肝脏损伤实验模型

Table 1 Endoplasmic reticulum stress occurred in a variety of experimental models of hepatic injury

肝损伤类型	肝损伤模型	参与 ERS 的主要细胞因子	损伤表现
免疫性肝损伤 ^[6-9]	急性免疫性肝炎	GRP78, GRP94, ERAD, PDI, NF- κ B	\uparrow ALT, 细胞凋亡, 肝细胞坏死, 硬化
	慢性免疫性肝炎	GRP78, eIF2 α , CHOP, Caspase-12	\uparrow ALT, 肝脏坏死, 肝癌形成
病毒性肝损伤 ^[10-11]	乙型肝炎病毒	GRP78, ATF6, Ire-1, XBP1	\uparrow ALT, 肝炎, 癌症
	丙型肝炎病毒	GRP78&94, CHOP, Ca ²⁺ , NF- κ B	\uparrow ALT, 肝炎, 细胞凋亡, 癌症
脂肪性肝损伤 ^[12-14]	高同型半胱氨酸血症	GRP78, CHOP, SREBP	\uparrow ALT, 脂肪肝, 细胞凋亡
	酒精性脂肪肝	GRP78, CHOP, SREBP, ATF6	\uparrow ALT, 细胞凋亡, 脂肪肝, 炎症
	非酒精性脂肪肝	GRP78, CHOP, XBP-1, Ire-1,	细胞凋亡, 脂肪肝, 炎症
中毒性肝损伤 ^[15-20]	重金属(Cd, Ni, Co 等)	GRP78, CHOP, Alkaline	\uparrow ALT
	H ₂ O ₂	PERK, GRP78, XBP-1	角蛋白包裹体
	对乙酰氨基酚	ERp72, CHOP, ATF6, Bax	\uparrow ALT, 肝炎, 肝坏死
	噻吩甲吡胺	eIF2 α , ATF4, GRP78	肝癌形成
	HIV 蛋白酶抑制剂	CHOP, ATF-4, XBP-1, SREBP	\uparrow ALT, 细胞凋亡, 脂肪堆积
	脂多糖	IRE-1, ATF-6, eIF2 α	肝硬化

3.1 内质网应激与免疫性肝病治疗

免疫性肝损伤临床病理表现多呈现灶性或弥散性细胞坏死, Tunel 染色呈现不同程度的细胞凋亡。越来越多的研究表明, 细胞凋亡信号转导与细胞器 (如线粒体、ER、高尔基体和溶酶体等) 的功能障碍密切相关。近年研究发现, ER 比其他细胞器对刺激信号更为敏感, ER 相关凋亡途径的下游多数与线粒体等细胞器有关。因此, ER 作为免疫性肝损伤中细胞凋亡新的、更早的始动靶点, 受到极大的重视。

3.1.1 激活转录 CHOP 基因 CHOP 是由 169 (人类) 或 168 (啮齿类) 个氨基酸残基组成、相对分子质量为 2.9×10^4 的蛋白质, 在哺乳动物细胞中广泛表达。CHOP 蛋白有两个功能区: N 端转录激活区和 C 端 DNA 结合区。静息状态下, CHOP 低水平表达; 当 ERS 时, CHOP 在转录水平上被强烈地诱导。CHOP 基因的转录激活是导致细胞凋亡的最重要途径^[21]。而 CHOP 也是 ERS 特异的促凋亡转录因子。ERS 上游的 PERK、ATF6 以及 IRE-1 都能诱导 CHOP 的转录, 而 PERK-eIF2 α 通路是 CHOP

蛋白表达所必需的^[22]。

CHOP 含两个相邻的丝氨酸残基 79 和 82, 可以作为 P38 MAPK 家族的底物。CHOP 通过与促凋亡死亡受体 5 (DR5) 基因 5'翼状区结合而增加 DR5 蛋白的表达, DR5 通过激活 caspase 通路诱导细胞的程序性死亡^[23]。CHOP 还可以通过抑制 Bcl-2 蛋白表达, 上调促凋亡因子 Bax 表达, 促进其从胞浆到线粒体的易位, 从而介导多种细胞的凋亡。

研究发现, 敲除 CHOP 基因的小鼠表型正常, 但能减轻因 ERS 诱导剂导致的枯否细胞凋亡, 降低免疫性肝炎发生率。因此, CHOP 诱导细胞凋亡途径中的调节分子可作为免疫性肝损伤药物治疗的候选靶标, 治疗肝脏疾病的前景非常好。研究还发现, 谷氨酰胺能够降低阻塞性黄疸肝细胞凋亡, 增加 Bcl-2 蛋白表达, 降低 Bax 蛋白表达, 从而对急性免疫性肝损伤起到保护作用^[24]。牛磺酸具有增强 Bcl-2 表达, 抑制 Bax 表达, 降低细胞因子 TGF- β 表达的作用, 从而减缓肝细胞凋亡, 改善慢性免疫性肝炎所致的肝纤维化^[25]。

3.1.2 Caspase-12 活化途径 Caspase-12 分布在 ER 膜上, 被过度 ERS 活化, 选择性启动 ERS 导致的凋亡^[26]。Caspase-12 分子是一类在进化上非常保守的蛋白酶类分子。其作为半胱氨酸蛋白酶类, 把半胱氨酸作为对底物裂解时的亲核基团; 作为天冬氨酸蛋白酶类, 切割天冬氨酸的羧基与下一个氨基酸的氨基形成的肽键。

Caspase-12 分子以酶原前体 procaspase-12 的形式合成, 并且在体内低水平表达。ERS 能引起 caspase-12 分子以瀑布式的活化方式活化, 活化的 caspase-12 分子催化裂解众多的效应分子, 诱发细胞凋亡。Caspase-12 的活化方式主要有 4 种: Ca^{2+} 依赖的钙蛋白酶 (calpain) 活化, 肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TRAF2) 依赖性活化, caspase-7 内质网转位, GRP78、caspase-7、caspase-12 复合物途径。

以 caspase 为靶点的药物有望成为治疗免疫性肝病的新的有效方法。Caspase 等促凋亡蛋白的抑制剂作为抗免疫细胞凋亡药可阻止肝细胞凋亡的过程, 延缓肝损伤。

3.1.3 激活 c-JUN NH₂ 末端激酶 (JNK) 途径 ERS 激活 Ire1, 其胞浆的酶结构域招募 TRAF2, TRAF2 可直接作用于凋亡信号调节激酶 (apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1) 使之激活^[27], 共同形成 Ire1-TRAF2-ASK1 复合物, 既而激活 c-JUN NH₂ 末端激酶 (c-JUN N-terminal kinase, JNK), 诱导细胞的凋亡。而基因沉默 ASK1 细胞中, ERS 则不能诱导 JNK 激活及细胞凋亡, 表明 ASK1 是 ERS 诱导 JNK 的激活以及细胞凋亡所必需的^[28]。

JNK 可以磷酸化 Bcl-2 抑制其抗凋亡活性, 也可以磷酸化 Bim 增加其促凋亡功能。ASK1 也可将信号传递给 P38。P38 可以通过磷酸化修饰 CHOP 来调节细胞凋亡, 因此在 ERS 过程中, PERK 和 Ire1 可能通过调节 CHOP 活性增加彼此的促凋亡效果。

JNK 通路参与了多种免疫性肝脏疾病的发生、发展及治疗过程。实验证明, 黄连解毒汤和黄连单煎剂能提高病理状况下大鼠的抗炎、抗氧化能力, 改善其内质网应激状态, 作用机制可能与其抑制 JNK 通路有关。姜黄素在铜过多引起的肝损伤实验中表现出抗脂质过氧化、抗炎、抗凋亡作用, 主要原因是姜黄素可以抑制 JNK 被细胞应激和细胞因子的激活, 从而抑制 JNK 途径引起的下游细胞应答反应^[29]。

3.1.4 Ca^{2+} 信号紊乱 通过 Ca^{2+} 信号调节细胞凋亡早在 20 世纪六七十年代就有报道, 随后越来越多的

实验结果证实了胞浆 Ca^{2+} 与细胞凋亡关系密切。当前研究认为细胞内钙稳态主要通过 ER 来保持^[30]。而 ER Ca^{2+} 稳态的破坏可引起细胞凋亡, 某种凋亡刺激因素可使 Ca^{2+} 从 ER 中释放, 然后引起线粒体通透孔的形成和线粒体内 Ca^{2+} 超负荷, 使线粒体膨胀, 导致线粒体外膜破裂。

此外, 从 ER 内释放的 Ca^{2+} 还可以激活钙调神经磷酸酶 (calcineurin)、钙蛋白酶、JNK 途径、死亡相关蛋白酶 (DAP kinase) 及其相关的 DRP-1。 Ca^{2+} 还参与调节 Bcl-2 家族表达, 激活线粒体外膜断裂的发动蛋白相关蛋白, 增加细胞色素 C 的释放, 引起线粒体凋亡蛋白酶激活因子 1 依赖的细胞凋亡。

Ca^{2+} 参与的细胞凋亡新机制的发现为各种 ERS 介导免疫性肝脏疾病的治疗提供了新的思路。研究发现熊去氧胆酸通过抑制细胞内 Ca^{2+} 释放, 能阻抑 ERS 介导的枯否细胞凋亡, 并能显著降低由三酰甘油引起的胞质内 Ca^{2+} 水平升高, 减轻 ERS 反应蛋白 GRP78/Bip 表达, 并抑制 ERS 途径启动的 caspase-12 活化, 从而阻断肝细胞凋亡^[31]。

3.2 内质网应激与病毒性肝病的治疗

ERS 与病毒性肝炎的发生和发展密切相关。病毒在宿主细胞存活并复制时, 通常利用宿主细胞的 ER 作为遗传物质复制、糖蛋白合成及病毒组装的场所。在病毒的复制增殖过程中, 在 ER 腔内迅速蓄积大量的病毒蛋白, 达到一定程度可影响 ER 的正常功能, 从而诱发 ERS。

乙型肝炎病毒 (HBV) 表面抗原由大、中、小 3 种包膜蛋白构成, 其中大包膜蛋白的过表达会导致 HBV 表面抗原的分泌障碍从而造成在 ER 内腔中的堆积^[32]。该作用会造成肝细胞的玻璃样变性和炎症细胞因子的敏感性增高, 从而造成肝脏实质损伤。

丙型肝炎病毒 (HCV) 会诱导生成一些参与 UPR 的成分, 如与 ER 膜相关的病毒复制的产物 NS3 和 NS5B^[33], 从而增强病毒复制; 增高细胞内胆固醇水平, 导致 Ca^{2+} 从 ER 内释放; 减少病毒蛋白质的糖基化, 扰乱正常蛋白质的折叠。HCV 不断增殖, 还能上调 GRP78 和 GRP94 等分子伴侣的表达, 以对抗 ERS 造成的细胞损伤, 但当 Bcl-2 蛋白质水平下降和 caspase-12 诱导表达增加等促凋亡因素占优势后, 则可能诱导细胞凋亡, 造成肝损伤^[34]。

现在的抗 HBV、HCV 药物的作用机制主要是以抗病毒结合增强免疫功能为主, ERS 的出现或许能给抗病毒药物研发提供新的方向。

3.3 内质网应激与脂肪性肝病的治疗

脂肪性肝损伤主要表现在肝的脂肪变性以及细胞凋亡,其中 ERS 促进细胞凋亡的机制已于前述。早期脂肪性肝损伤一个最明显的表现是脂滴积聚,主要是由于脂肪的合成增多及利用障碍所致。ERS 时胆固醇被消耗,启动固醇调节级联反应,进而激活固醇调节元件结合蛋白 (sterol regulatory element binding protein, SREBP),并与 SREBP 裂解激活蛋白 (SREBP cleavage activating protein, SCAP) 形成复合物,进入高尔基体。被高尔基体 S1P 和 S2P 酶解的 SREBP 成为转录因子进入胞核调控靶基因的转录。调节的靶基因包括乙酰 CoA 羧化酶、脂肪酸合成酶和甘油-3-磷酸脂酰转移酶等,它们参与脂质代谢的许多重要生理过程^[35]。

除了固醇调节级联反应,活性氧也在 ERS 与脂肪性肝损伤中搭建了桥梁。ER 是脂肪酸代谢的第一场所,脂肪酸在 ER 代谢会产生一定的活性氧,氧化应激的作用靶点之一就是 ER。活性氧能够启动 Ca^{2+} 从 ER 释放,导致线粒体内钙积聚,进一步增加了活性氧的产生,放大氧化应激及钙负载,引起恶性循环。活性氧以及钙负载促进线粒体膜通透性转换孔开放,线粒体膜电位降低,引起三磷酸腺苷耗竭,能量产生障碍。当脂肪酸过载且线粒体脂肪酸 β 氧化障碍时,未被氧化的脂肪酸不断酯化生成三酰甘油,沉积于肝细胞内,导致肝细胞脂肪变性,引起脂肪性肝病的发生。

最新研究表明,从白桦树皮中提取的白桦酯醇通过阻断 ERS 启动的 SREBP 反应,降低脂质合成相关限速酶的活性,抑制胆固醇、脂肪酸和三酰甘油等脂质合成,显著降低脂肪酸和三酰甘油水平,有效预防脂肪肝等疾病的发生^[36]。

3.4 内质网应激与中毒性肝病治疗

研究证实,各种化学毒物、氧化剂、钙离子载体和糖基化抑制剂等均能诱发 ERS。肝脏是体内最大、最主要的药物代谢器官,在外源性化合物的代谢和转化中起关键作用,因而它也是外源性毒物药物攻击的主要靶器官。多数外源性化合物通过 ER 膜上的混合功能氧化酶系统(如 CYP450 酶系等)进行生物转化和代谢,形成无活性成分排出体外。这就表明 ER 在肝脏解毒作用中占非常重要的地位,但此过程亦可能影响 ER 的结构或功能,诱导 ERS 反应,引起细胞凋亡、肝损伤等一系列级联反应^[37]。

CCl_4 是实验研究过程中,中毒性肝病造模的常

用工具药之一。 CCl_4 经肝微粒体细胞色素 P450 代谢生成自由基 ($\text{CCl}_3\cdot$), $\text{CCl}_3\cdot$ 可抑制细胞膜和微粒体膜上钙泵的活性,使 Ca^{2+} 内流增加,从而引起细胞内钙稳态破坏,进一步引起代谢紊乱,最终导致肝细胞凋亡。黄芩苷元是 12-脂氧化酶抑制剂,能降低炎性细胞内 Ca^{2+} 增加,因此黄芩苷元对 CCl_4 造成的小鼠中毒性肝损伤模型有保护作用,除与其清除或抑制自由基有关以外,还可能与其减少 $\text{CCl}_3\cdot$ 所致的 Ca^{2+} 内流增加有关^[38]。

4 结语

近年来随着对 ERS 研究的深入,其与各种类型的肝损伤的机制方面有了一定的认识,其与肝病治疗的关系也取得了一些进展。但是,如何合理利用 ERS 在肝脏细胞保护和损伤方面的双刃剑功能,还有待进一步研究,以便为肝脏损伤疾病的药物研发和临床治疗提供更多的理论支持。随着研究的深入,ERS 有望成为肝病治疗的新靶点,以其为靶点研发的新药,或许能够通过改善细胞内相关因子的含量和活性来治疗肝脏损伤性疾病,有望在肝病治疗方面获得新的选择。

参考文献

- [1] Yoshida H, Matsui T, Hosokawa N, *et al.* A time-dependent phase shift in the mammalian unfolded protein response [J]. *Dev Cell*, 2003, 4(2): 265-271.
- [2] Harding H P, Zhang Y, Bertolotti A, *et al.* Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response [J]. *Mol Cell*, 2000, 5(5): 897-904.
- [3] Calton M, Zeng H, Urano F, *et al.* IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA [J]. *Nature*, 2002, 415 (6867): 92-96.
- [4] Kaufman R J. Regulation of mRNA translation by protein folding in the endoplasmic reticulum [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(3): 152-158.
- [5] Cullinan S B, Diehl J A. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(3): 317-332.
- [6] Malhi H, Kaufman R J. Endoplasmic reticulum stress in liver disease [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(4): 795-809.
- [7] Sakon M, Ariyoshi H, Umeshita K, *et al.* Ischemia-reperfusion of the liver with special reference to calcium-dependent mechanisms [J]. *Surg Today*, 2002, 32(1): 1-12.
- [8] Tamaki N, Hatano E, Taura K, *et al.* CHOP deficiency attenuates cholestasis-induced liver fibrosis by reduction of hepatocyte injury [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver*

- Physiol*, 2008, 294(2): G498-G505.
- [9] 李洪忠, 万敬员, 张 力, 等. 羟基积雪草苷对小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2008, 39(10): 1525-1527.
- [10] Benali-Furet N, Chami M, Houel L, *et al.* Hepatitis C virus core triggers apoptosis in liver cells by inducing ER stress and ER calcium depletion [J]. *Oncogene*, 2005, 24(31): 4921-4933.
- [11] Fournillier A, Wychowski C, Boucreux D, *et al.* Induction of hepatitis C virus E1 envelope protein-specific immune response can be enhanced by mutation of *N*-glycosylation sites [J]. *J Virol*, 2001, 75(24): 12088-12097.
- [12] Shinohara M, Ji C, Kaplowitz N. Differences in betaine-homocysteine methyltransferase expression, endoplasmic reticulum stress response, and liver injury between alcohol-fed mice and rats [J]. *Hepatology*, 2010, 51(3): 796-805.
- [13] Wang D, Wei Y, Pagliassotti M. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(2): 943-951.
- [14] Endo M, Masaki T, Seike M, *et al.* TNF- α induces hepatic steatosis in mice by enhancing gene expression of sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) [J]. *Exp Biol Med*, 2007, 232(5): 614-621.
- [15] Lou L X, Geng B, Chen Y, *et al.* Endoplasmic reticulum stress involved in heart and liver injury in iron-loaded rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(7): 612-618.
- [16] 李满妹, 江 涛, 黄杰昌, 等. 知母总黄酮对溴酸钾诱发小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 252-255.
- [17] Nagy G, Kardon T, Wunderlich L, *et al.* Acetaminophen induces ER dependent signaling in mouse liver [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 459(2): 273-279.
- [18] Auman J T, Chou J, Gerrish K, *et al.* Identification of genes implicated in methapyrilene-induced hepatotoxicity by comparing differential gene expression in target and nontarget tissue [J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(4): 572-578.
- [19] Laing S, Wang G, Briazova T, *et al.* Airborne particulate matter selectively activates endoplasmic reticulum stress response in the lung and liver tissues [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 299(4): C736-749.
- [20] 施明珠, 李有贵, 钟 石, 等. 蛹虫草菌丝体醇提物对氢化可的松致小鼠肝损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 262-265.
- [21] Oida Y, Shimazawa M, Imaizumi K, *et al.* Involvement of endoplasmic reticulum stress in the neuronal death induced by transient forebrain ischemia in gerbil [J]. *Neuroscience*, 2008, 151(1): 111-119.
- [22] Pahl H L. Signal transduction from the endoplasmic reticulum to the cell nucleus [J]. *Physiol Rev*, 1999, 79(3): 683-701.
- [23] Xu C, Bailly-Maitre B, Reed J C. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2656-2664.
- [24] 程 雷, 谭 广, 王 举, 等. 谷氨酰胺对阻塞性黄疸大鼠肝细胞凋亡和相关基因 Bcl-2 及 Bax 表达的影响 [J]. 吉林大学学报, 2005, 31(5): 675-677.
- [25] 陈岳祥, 李 石, 张兴荣, 等. 牛磺酸对四氯化碳诱导大鼠肝纤维化的抑制作用 [J]. 中华消化杂志, 1999, 19(3): 185-187.
- [26] Kadowaki H, Nishitoh H, Ichijo H. Survival and apoptosis signals in ER stress: the role of protein kinases [J]. *J Chem Neuroanat*, 2004, 28(1/2): 93-100.
- [27] Matsukawa J, Matsuzawa A, Takeda K, *et al.* The ASK1-MAP kinase cascades in mammalian stress response [J]. *J Biochem*, 2004, 136(3): 261-265.
- [28] Hatai T, Matsuzawa A, Inoshita S, *et al.* Execution of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-induced apoptosis by the mitochondria-dependent caspase activation [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(34): 26576-26581.
- [29] 杨小玉, 陆付耳, 黄 琳, 等. 黄连解毒汤和黄连单煎剂对胰岛素抵抗大鼠氧化应激和内质网应激的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(17): 1433-1437.
- [30] Verkhratsky A, Toescu E C. Endoplasmic reticulum Ca^{2+} homeostasis and neuronal death [J]. *J Cell Mol Med*, 2003, 7(4): 351-361.
- [31] 谢 青, 李光明. 熊去氧胆酸抗肝细胞凋亡分子机制研究进展 [J]. 世界临床药物, 2004, 25(11): 679-682.
- [32] Ji C, Kaplowitz N. ER stress: can the liver cope? [J]. *J Hepatol*, 2006, 45(2): 321-333.
- [33] Hansson G K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(16): 1685-1695.
- [34] Jiang J, Ballinger C A, Wu Y, *et al.* CHIP is a U-box-dependent E3 ubiquitin ligase: identification of Hsc70 as a target for ubiquitylation [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(46): 42938-42944.
- [35] McPherson R, Gauthier A. Molecular regulation of SREBP function: the Insig-SCAP connection and isoform-specific modulation of lipid synthesis [J]. *Biochem Cell Biol*, 2004, 82(1): 201-211.
- [36] 吴光健, 黄汝亮, 刘 军, 等. 白桦脂醇对酒精性肝损伤的治疗作用 [J]. 预防医学论坛, 2010, 16(9): 825-827.
- [37] Xie Q, Khaoustov V I, Chung C C, *et al.* Effect of tauroursodeoxycholic acid on endoplasmic reticulum stress-induced caspase-12 activation [J]. *Hepatology*, 2002, 36(3): 592-601.
- [38] 刘建新, 谢水祥, 周 俐, 等. 黄芩苷元对小鼠四氯化碳肝损伤的保护作用 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(4): 798-799.