

tion of suspected placental invasion[J]. Mang Reson Imaging, 2007, 25(1): 87-93.

[23] Leyendecker JK. MRI of pregnancy-related issues: abnormal placentation[J]. Am J Roent, 2012, 198(2): 311-320.

[24] Meng X, Xie L, Song W. Comparing the diagnostic value of ultrasound and magnetic resonance imaging for placenta accreta: a systematic review and meta-analysis[J]. Ultrasound Med Biol, 2013, 39(11): 1958-1965.

[25] Bour LS. Suspected invasive placenta: evaluation with magnetic resonance imaging[J]. Eur Radiol, 2014, 24(12): 3150-3160.

(收稿日期: 2016-07-23 修回日期: 2016-11-20)

• 综 述 • doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2017. 02. 043

青蒿琥酯抗肝纤维化作用机制的研究进展

钱 鹏¹综述, 陈剑群^{2△}审校

(1. 徐州医科大学研究生学院, 江苏徐州 221002; 2. 徐州医科大学附属医院消化内科, 江苏徐州 221002)

[关键词] 肝细胞; 青蒿琥酯; 肝纤维化; 作用机制

[中图分类号] R575. 2 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2017)02-0269-03

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是各种慢性肝病造成肝组织损伤, 瘢痕组织形成, 导致肝实质内纤维组织过度沉积, 正常肝小叶的结构和功能被破坏的过程。如果这种损伤修复过程持续存在, 瘢痕组织增生、包裹新生的肝实质细胞, 在组织学上形成假小叶, 则肝脏进入 HF 的晚期阶段即形成肝硬化^[1]。

目前研究表明, HF 发生的相关机制是: 致肝病因子造成肝细胞损伤, 激活肝巨噬细胞(kupffer cell, KC)、肝窦内皮细胞及损伤的肝细胞等释放多种细胞因子和化学介质共同作用于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC), 使处于静息状态的 HSC 激活并转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)。激活的 HSC 通过自分泌和旁分泌, 促进 HSC 增殖并分泌大量的细胞外基质(extra cellular matrixc, ECM)在肝脏内沉积, 最终导致 HF 的形成^[2]。

青蒿琥酯(artesunate, ART), 化学名为二氢青蒿素-1, 2- α 琥珀酸单酯, 分子量 384, 是中草药提取物青蒿素的衍生物之一。ART 具有抗疟疾、免疫调节、抗病毒及抗肿瘤等多方面药理作用, 且不良反应较少。近年来, ART 的抗纤维化作用逐渐受到重视, 其对于 HF、肺纤维化的逆转均有较好的效果^[3]。本文现就 ART 抗 HF 的作用及其机制作如下综述。

1 抗氧化应激反应

诸多肝损伤因素在 HF 的致病过程中均不同程度的伴有氧化应激(oxidative stress, OS)。肝炎病毒、酒精等肝细胞损伤因素长期作用于肝细胞, 肝脏内活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生过多, 超出了体内抗氧化物的清除能力时, 就会导致 OS, 引起肝脏细胞损伤, 释放大量的氧自由基, 进而引发炎症因子和细胞因子的释放, 激活 HSC 促进 HF 形成。由此可见, OS 在肝病的发病及发展中具有重要作用。陈品等^[4]采用高脂饲料建立大鼠非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)模型, 以 ART 进行干预, 结果显示 ART 能呈剂量依耐性的增加机体内超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽-过氧化物酶(GSH-Px)的含量, 清除过量丙二醛(MDA), 增强机体抗氧化能力, 抑制 OS, 从而保护肝脏的结构与功能。

正常情况下, 细胞质内 Ca^{2+} 浓度维持在稳定的水平。当机体受到相关致病因素刺激时, 细胞质内 Ca^{2+} 浓度会显著升高, 使细胞内的氧化磷酸化脱偶联, ATP 生成减少, 改变细胞膜的通透性, 使黄嘌呤还原酶变为氧化酶, 出现 OS。同时 Ca^{2+} 作为第二信使, 浓度升高会启动基因转录, 促使细胞分泌

大量的炎症因子, 加重机体的损伤。刘金元等^[5]对四氯化碳建立的小鼠 HF 模型研究发现, ART 处理组较之模型组在降低细胞质中 Ca^{2+} 浓度的同时改善了小鼠 HF 症状, 提示 ART 亦可通过调节细胞内外钙离子的分布, 阻止因钙离子失衡所造成的 OS 对肝细胞的损伤。

2 抑制致炎因子

HSC 活化过程大致可分为早期启动、晚期持续两个阶段^[6]。当肝脏受到损伤因子刺激时, 肝细胞、肝窦内皮细胞、Kupffer 细胞、血小板等 HSC 的邻近细胞可分泌多种细胞因子, 如: 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血小板衍生因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)等。这些细胞因子作用于 HSC, 使其转变为具有自身增殖能力的 MFB, 完成 HSC 的早期活化。活化的 HSC 产生大量细胞因子可与激活的 HSC 形成正反馈, 即使去除原发损伤因素, HSC 的活化也可得到持续。此时, HSC 活化即进入晚期持续阶段。可见, 消除炎症、减少细胞因子的释放, 是抑制胶原合成, 抗 HF 的一条重要途径。张晓勇等^[7]研究表明, ART 可通过调控 Kupffer 细胞分泌 TNF- α 、TGF- β_1 和 IL-6 等致 HF 相关细胞因子而抑制 HSC 的活化, 从而起到抗 HF 的作用。丁体龙等^[8]从改善肝脏微环境的角度探讨骨髓间充质肝细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)联合 ART 对 HF 的影响, 实验结果显示, 二者联合应用表现出了较好的协同作用, 提示 ART 可通过改善肝脏微环境而促进 BMSCs 向肝细胞分化。

3 对相关信号通路的影响

HSC 的增殖和活化受到多种细胞因子及细胞内多种信号传导通路网络的调控。目前相关研究有 TGF- β /Smad 信号通路、PDGF 信号通路、脂多糖/Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)4 信号传导通路等。

3.1 对 TGF- β /Smad 信号通路的影响 TGF- β /Smad 信号传导在 HSC 活化过程中发挥重要作用^[9]。当肝脏受到损伤因子刺激时, TGF- β_1 与 HSC 表面受体 TGF- β -R 结合, 将信号转入细胞核内, 启动 HSC 活化^[10]。大量的实验数据证实, 阻断 TGF- β /Smad 信号通路可以显著减轻肝脏纤维化的发展^[11]。来丽娜等^[12]制备大鼠免疫性 HF 模型, 以 ART 干预, 发现处理组 TGF- β_1 mRNA 的表达下降, 而反映 HSC 活化标志的 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达上升。此外本实验在体外用

TGF- β_1 刺激 HSC-T6 细胞,发现 I 型前胶原 mRNA 及 I 型胶原蛋白增多,与 ART 共培养后发现 I 型胶原的量比单独使用 TGF- β_1 刺激时明显减少,表明 ART 在体内、体外均可通过 TGF- β /Smad 信号通路对 HSC 起抑制作用。王媛等^[13]研究也表明,ART 对培养活化的 HSC 内 TGF- β_1 mRNA 及其蛋白的表达有明显抑制作用,且呈量效关系,提示 ART 可通过抑制 TGF- β_1 的产生阻断 TGF- β /Smad 信号通路来抑制 HSC 的激活与 ECM 增生。

3.2 对 PDGF 信号通路的影响 PDGF 是 HF 发生过程中目前已知多肽生长因子中对 HSC 作用最强的有丝分裂原。有研究表明,PDGF-BB 诱导的细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases,ERK)1/2 细胞内信号途径是 HSC 活化和增殖的主要方式。PDGF-BB 与 HSC 细胞膜上相应受体结合使其激活,顺序活化 Ras-Raf-MEK-ERK 通路,最终导致 HSC 增殖和表型改变。实验证明,ART 可以抑制 PDGF-BB 诱导的 HSC 内 p-ERK1/2 的表达且随 ART 的浓度的增加而作用增强^[14]。进一步研究发现,ART 可通过抑制 ERK1/2 蛋白的活化而降低转录因子激活蛋白-1(activating protein-1, AP-1)的活性及下调细胞周期蛋白(cyclin D1)的表达,从而达到抑制 HSC 增殖的目的^[15]。

蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)作为酪氨酸蛋白激酶通路的信号分子,存在于细胞质中,可被细胞内信号激活后转位到细胞膜上,而后激活 Ras/MAPK 通路,诱导 HSC 增殖与迁移。刘金元等^[16]研究发现,HSC-T6 细胞经过 ART 作用后,细胞生长受到抑制的同时,免疫荧光检测未发现 PKC 在 HSC-T6 细胞内出现转位,提示 ART 可能通过阻断了 PDGF/PKC 的细胞内信号转导,而起到抗纤维化的作用。

3.3 对脂多糖/TLR4 信号通路的影响 TLR4 是 TLR 的重要成员之一,在肝脏中表达于 HSC 和 Kupffer 细胞。革兰阴性细菌细胞壁的主要成分脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)是其主要配体,髓样细胞分化因子 88(myeloid differentiation protein,MyD88)是 TLR4 信号联级的必要部分。当 TLR4 胞外区与脂多糖结合,可刺激 TLR4 引发下游 MyD88 依赖的信号通路,从而进一步激活核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)、AP-1 等转录因子,诱导一系列基因的活化与表达^[17]。研究表明,如果 NF- κ B 的活化被成功抑制,就能够有效控制炎症的放大作用,进而能够控制肝硬化的进程^[18]。Lai 等^[19]用 CCl₄ 建立 SD 大鼠 HF 模型,实验发现 ART 处理组能下调 TLR4、MyD88 的表达及抑制了 NF- κ B p65 转位,同时发现 α -SMA、TGF- β_1 表达的下降,提示 ART 通过对 LPS/TLR4/NF- κ B 信号通路的抑制,有效抑制 HSC 的活化,从而达到缓解 HF 及炎症的作用。

4 抑制 HSC 增殖,促进 HSC 凋亡

根据 HF 发生的相关机制,有研究认为 HSCs 的激活是 HF 的核心环节。因此,有效抑制 HSC 的增殖和活化或促进其凋亡,是治疗和改善 HF 的关键途径。相关研究证实,ART 能够有效抑制 HSCLX-2 的增殖,且呈浓度和时间依赖性^[20]。杨冬娣等^[21]实验发现,ART 可以阻滞 HSC 于 G1 期,推断 ART 可能具有抑制细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases,CDK)的作用,使细胞停留于 G1 期,然后通过调节凋亡基因和凋亡蛋白 fas 和 bcl-2 的表达,激活细胞凋亡途径,从而促使活化的 HSC 发生凋亡。Longxi^[22]研究发现,ART 可通过增加 p53 mRNA 和蛋白的表达,将细胞阻滞在 G1 期,从而促进 HSC 的凋亡。杜岩等^[23]进一步研究发现,随着 ART 浓度的升高,神经酰胺、PPAR- γ 、p53、Caspase 3 蛋白的表达上调,促进细胞凋亡。从而推测,ART 可能是通过干预神经酰胺-PPAR- γ 通路抑制 HSC 增殖,促进 HSC 凋亡,从而减

少羟脯氨酸的含量,使 HF 减弱。

5 促 ECM 降解作用

HF 的发生是一个动态的过程,即纤维组织的不断沉积与降解。维持 ECM 降解和合成平衡的主要因子是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)及组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases,TIMPs)。人体内表达的 MMPs 有 23 种。研究表明,MMP-2、MMP-9、MMP-1(大鼠为 MMP-13)与 HF 密切相关。肝脏 MMP-2、MMP-9 共同降解正常肝窦内皮细胞下基底膜中 IV 型胶原,改变肝细胞内环境,并激活 HSC 和 kupffer 细胞,使其分泌大量的 TIMPs、MMP-2 及 I、III 型胶原。而 MMP-13 主要降解 I 型胶原(ECM 的主要成分)。TIMP-1 可抑制 MMP-13 的活性,使其对 I 型胶原的降解作用降低,HF 加重。Xu 等^[24]证实了 ART 能够通过抑制 HSC 的活化,减少 MMP-2、MMP-9、 α -SMA 胶原蛋白,提高 MMP-13,减轻 HF 程度。刘文东等^[25]实验也较一致的表明 ART 通过降低肝组织 MMP-2、MMP-9 表达,提高 MMP-13 表达水平,降解 I 型胶原,从而发挥抗 HF 的作用。

6 结 语

综上所述,ART 可以从抗 OS、抑制致炎因子、抑制 HSC 增殖与诱导 HSC 凋亡、影响 ECM 的合成与代谢等多个环节发挥抗肝纤维化作用,因而可以预见 ART 会具有良好的临床应用前景。但是,导致 HF 发生的因素多且机制十分复杂,ART 抗 HF 的研究目前也多停留于实验阶段。故今后应进一步针对对于本药进行临床研究,以期得到临床与实验相一致的结果。

参考文献

- [1] Pellicoro A, Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis[J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2012, 5 Suppl 1: S26.
- [2] 冀航, 王肃生, 梁刚, 等. 青蒿琥酯霜剂治疗增生性瘢痕的临床应用[J]. 广州医学院学报, 2014, 24(3): 50-52.
- [3] Wang C, Xuan X, Yao W, et al. Anti-profibrotic effects of artesunate on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in Sprague Dawley rats[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 1291-1297.
- [4] 陈晶, 李丽, 叶月芳. 青蒿琥酯对非酒精性脂肪炎大鼠肝组织中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 和固醇调节元件结合蛋白-1c 表达的影响[J]. 中国医药导报, 2014, 35(23): 4-7, 169.
- [5] 刘金元, 杨冬娣. 青蒿琥酯对肝纤维化小鼠肝细胞内 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 新中医, 2010, 42(1): 108-109.
- [6] Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver[J]. Physiol Rev, 2008, 88(1): 125-172.
- [7] 张晓勇, 周春祥. 青蒿琥酯对大鼠肝 Kupffer 细胞分泌肝纤维化相关细胞因子的影响[J]. 安徽医学, 2014, 35(10): 1437-1439.
- [8] 丁体龙, 马勇, 王勇, 等. 骨髓间充质干细胞联合青蒿琥酯治疗肝纤维化[J]. 中国基层医药, 2014, 21(13): 1936-1939.
- [9] 付珍珠, 郑婷, 张永生. TGF- β /Smad 信号转导通路与肝纤维化研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(10): 1189-1195.
- [10] Yoshida K, Matsuzaki K. Differential regulation of TGF- β /Smad signaling in hepatic stellate cells between acute and chronic liver injuries[J]. Front Physiol, 2012, 3(4):

53.

[11] Dooley S,Ten Dijke P. TGF- β in progression of liver disease[J]. Cell Tissue Res,2012,347(1):245-256.

[12] 来丽娜,杨柳絮,郭春花,等. 青蒿琥酯抗大鼠免疫性肝纤维化的作用及机制研究[J]. 中国药理学通报,2011,27(1):125-129.

[13] 王媛,方步武,彭龙希. 青蒿琥酯对大鼠原代肝星状细胞产生与分泌转化生长因子 $\beta 1$ 的影响[J]. 中华肝脏病杂志,2012,20(4):294-299.

[14] 来丽娜,任泽恩,杨柳絮,等. ERK1/2 信号通路在青蒿琥酯抑制 PDGF-BB 诱导 HSC 细胞增殖中的作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2011,16(2):126-130.

[15] 来丽娜,宋晓亮,任泽恩,等. 青蒿琥酯通过抑制 ERK1/2 蛋白活化负性调控 HSC-T6 细胞 cyclin D1 的表达和 AP-1 活性[J]. 中国病理生理杂志,2012,28(1):94-99.

[16] 刘金元,杨冬娣. 青蒿琥酯对 HSC-T6 细胞 PKC 蛋白细胞内转位的影响[J]. 新中医,2012,44(3):128-130.

[17] Huang RL, Yuan Y, Zou GM, et al. LPS-stimulated inflammatory environment inhibits BMP-2-induced osteoblastic differentiation through crosstalk between TLR4/MyD88/NF- κ B and BMP/Smad signaling[J]. Stem Cells Dev,2014,23(3):277-289.

[18] Bai T, Yang Y, Wu YL, et al. Thymoquinone alleviates thioacetamide-induced hepatic fibrosis and inflammation by activating LKB1-AMPK signaling pathway in mice [J]. Int Immunopharmacol,2014,19(2):351-357.

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.02.044

[19] Lai L,Chen Y,Tian X,et al. Artesunate alleviates hepatic fibrosis induced by multiple pathogenic factors and inflammation through the inhibition of LPS/TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2015 (765):234-241.

[20] 张晓燕,马淑晶,徐亚洁,等. 青蒿琥酯对人源肝星状细胞 LX-2 增殖、胶原产生以及 KLF6 表达的影响[J]. 天津医科大学学报,2014,20(4):257-259,263.

[21] 杨冬娣,刘金元. 青蒿琥酯对肝纤维化小鼠肝星状细胞凋亡及其相关蛋白的影响[J]. 长春中医药大学学报,2009,25(3):323-324.

[22] Longxi P,Buwu F, Yuan W, et al. Expression of p53 in the effects of artesunate on induction of apoptosis and inhibition of proliferation in rat primary hepatic stellate cells[J]. PLoS One,2011,6(10):e26500.

[23] 杜岩,李立楠. 青蒿琥酯抑制肝纤维化的作用及其机制[J]. 中国应用生理学杂志,2015,31(1):14-17.

[24] Xu Y,Liu W,Fang B,et al. Artesunate ameliorates hepatic fibrosis induced by bovine serum albumin in rats through regulating matrix metalloproteinases [J]. Eur J Pharmacol,2014(744):1-9.

[25] 刘文东,李英娴,姜婷婷,等. 青蒿琥酯对肝纤维化大鼠肝组织基质金属蛋白酶表达的影响[J]. 天津医科大学学报,2013,19(5):362-364,372.

(收稿日期:2016-07-21 修回日期:2016-11-08)

钠氢通道 1 在脑缺血再灌注损伤中的相关机制研究进展

周 炬 综述,刘红亮[△]审校
(重庆市肿瘤研究所麻醉科 400030)

【关键词】 脑缺血;再灌注;再灌注损伤;钠氢通道 1
【中图分类号】 R614.4 【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-8348(2017)02-0271-03

大脑发生缺血一段时间后再恢复血供,不仅不能改善脑缺血的症状,还会引起更加严重的脑功能障碍,该现象被称为脑缺血再灌注损伤。各种疾病(脑卒中)、创伤,以及手术(颈内动脉内膜切除术,动脉瘤修补术)都是脑缺血再灌注损伤的常见原因。脑缺血再灌注损伤的机制复杂,缺血和再灌注过程通过引起一系列细胞、分子及其调节过程的变化损伤脑功能,其中主要包括离子失衡、血脑屏障破坏、氧化应激、炎症反应、细胞凋亡等。

钠氢通道(Na⁺-H⁺ Exchanger,NHE)家族是细胞膜上普遍存在并广泛表达的一种蛋白离子通道,对维持细胞内 pH 以及细胞体积稳定至关重要^[1-2]。NHE-1 离子通道是 NHE 家族的重要亚型,其在脑组织分布广泛。近年来研究发现,该离子通道的激活与脑缺血再灌注损伤有密切联系^[2],通过阻断 NHE-1 离子通道可以改善大脑缺血再灌注损伤。本文将从离子失衡、细胞水肿、炎症反应、细胞凋亡 4 个方面描述 NHE-1 在脑缺血再灌注损伤中的作用,并探讨未来对脑缺血再灌注损伤的保护策略。

1 离子失衡

中枢神经系统作为高代谢器官对缺血缺氧异常敏感,短时

间的缺血、缺氧即可引起脑组织细胞无氧代谢增加,从而导致细胞内酸中毒。而神经元细胞及胶质细胞对酸中毒极为敏感,因此,有效的细胞内 pH 调节机制对于脑保护至关重要,而 NHE-1 的主要生理功能即调节细胞内 pH^[3]。组织缺血、缺氧的情况下,细胞内 H⁺ 浓度增加,细胞内出现酸中毒,为纠正细胞内酸中毒 NHE-1 被激活,Na⁺ 和 H⁺ 以 1:1 的形式反向交换,细胞内 H⁺ 被排出细胞的同时将细胞外的 Na⁺ 交换到细胞内。而 NHE-1 的过度激活导致细胞内 Na⁺ 超载,进而激活钠钙离子通道(Na⁺-Ca²⁺ Exchanger,NCX),引起细胞内 Ca²⁺ 超载,造成细胞损伤。在其他细胞,如上皮细胞、心肌细胞及肺泡上皮细胞,都已经证实了 NHE-1 的阻滞剂能够保护由缺血再灌注中引起的钙离子介导的细胞损伤^[4-5]。

Luo 等^[6]观察到在脑缺氧无糖损伤(OGD)3 h,再灌注(REOX)1 h 后神经细胞内 Na⁺ 浓度增加了 7 倍,而细胞内 Ca²⁺ 浓度增加了 1.5 倍,再灌注 21 h 后发生了(68±10)%的神经细胞死亡。在运用 NHE-1 特异性阻滞剂 HOE642 后,OGD 引发的神经细胞死亡减少 40%~50%,并且细胞内 Na⁺ 和 Ca²⁺ 的蓄积出现了明显的缓解。

脑缺血、缺氧后,细胞内酸中毒导致星形胶质细胞肿胀,而