· 综述 ·

核因子-κB 与多器官功能障碍综合征

韩易 拓西平

多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 早期即有过度的炎症反应。外源性因子通过多种途径, 活化巨噬细胞产生致炎性细胞因子; 缺血再灌注损伤、微循环障碍引起氧自由基等释放; 激活中性粒细胞、内皮粘附分子; 内毒素血症激活免疫活性细胞、补体系统、凝血系统等可继续发展至 MODS。与致炎性细胞因子有直接关系的上游信号分子为核因子-κB (nuclear factor κB, NF-κB), NF-κB 的活化和易位入细胞核后介导致炎性细胞因子的转录^[1]。氧自由基在细胞内又是介导 NF-κB 活化的重要信号分子。

1 NF-κB 的结构、功能与活化

NF-κB 是机体细胞快速反应系统中关键的因子, 随其功能变化可快速调节细胞的转录程序, 使其能适应外界应激情况^[2]。许多基因的调节区有 NF-κB 结合的位点, 这些基因主要参与机体对外界应激反应如免疫反应、炎症反应和急性期反应等。

多种细胞中均有 NF-κB, 其蛋白亚基主要有 5 种, 分别为: P65, c-Rel, RelB, P50/P105 和 P52/P100。前 3 种为有活性的转录蛋白, P105, P100 分别为 P50 和 P52 的前体蛋白。NF-κB 家族成员在结构上以同源二聚体或异源二聚体形式存在, 有生理功能的 NF-κB 是 P50 和 P65 的异源二聚体。每种蛋白亚基 N 端均有与 Rel 原癌基因同源区, 内含 DNA 结合区域、二聚体区域和核定位信号 (nuclear localization signal, NLS)。

NF-κB 的二聚体在结合包裹 DNA 双螺旋时呈典型的蝴蝶状, P50 结合于 DNA 上可覆盖 2/3 的面积, 仅留出槽状的 DNA 结构。NF-κB 对 DNA 的包绕及广泛接触使其有很大的亲和力, 结合于 DNA 增强子参与基因转录后可被新合成的抑制蛋白 κB-α (inhibitant protein κB-α, IκB-α) 结合, 从 DNA 上解

离回到细胞质中。NF-κB-DNA 复合体半衰期一般为 45min, 如给予 IκB 可使其降至 3min。IκB 不仅抑制 DNA 与 NF-κB 的结合, 也可使 NF-κB 构象改变从而与 DNA 解离, 中止 NF-κB 介导的转录过程。在静息细胞中, NF-κB 的 P65 亚基与 IκB 蛋白结合, 覆盖了 P50 蛋白上的核定位信号, 使 NF-κB 处在失活状态。NF-κB 的抑制分子包括 IκB 家族 (IκB-α、IκB-β、IκB-γ、IκB-ε)、NF-κB 的前体分子 P100 (NF-κB1) 和 P105 (NF-κB2)、原癌基因 bcl-3 的产物 Bcl-3^[3]。每种 IκB 蛋白都包含多个锚蛋白重复序列 (ankyrin repeats), 该序列可特异性地结合于 NF-κB 的 Rel 家族特定区域上, 通过结合 IκB 分子可覆盖 NF-κB 上的核蛋白定位信号, 从而阻止 NF-κB 易位进入核内。IκB-γ 仅发现于小鼠的前 B 细胞中, 而 Bcl-3 通常在组织中以较低水平表达。主要是 IκB-α 和 IκB-β 这 2 种同工型与 P65 亚基结合, 外来信号诱导 NF-κB 活化必先促使 IκB 蛋白解离, NF-κB 二聚体才可进入核内启动基因的转录。

NF-κB 的功能如同胞质中的第二信使传递上游信号进入细胞核内, IκB 蛋白的解离需来自上游信号递质的作用, 主要有胞浆内钙离子和活性氧介质激活 IκB 各亚型自身的蛋白激酶使 IκB 磷酸化, 磷酸化后的 IκB 变形与 NF-κB 二聚体解离, 暴露出核定位信号以使 NF-κB 进入核内。有多种蛋白激酶能促使 IκB 磷酸化, 激酶的激活又有上游的激酶调节, 主要有直接激活的 IκB 蛋白激酶、中介蛋白激酶、细胞膜受体结合或相关的蛋白酶和细胞膜表面受体等。

从外界应激触发、信号作用于细胞膜受体到 NF-κB 活化进入细胞核内的过程是一个相互调节、相互影响的信号转导系统, 几乎每个环节都有其调节单位, 故 NF-κB 的活化是在一系列信号转导系统的调节下完成的, 要发挥不同的生理作用, 其活化过程也有不同, 调节系统也会相应调整以满足机体不同的生理需要。在调节或影响 NF-κB 的信号递质中活性氧的作用尤为重要, 在机体受到各种应激后细胞内会有一定氧自由基的产生, 不仅对细胞膜上

作者单位: 200433 上海, 解放军第二军医大学附属长海医院老年病科

作者简介: 韩易, 女, 在读硕士研究生, 住院医师
通讯作者: 韩易, E-mail: hanyi326@hotmail.com

蛋白或脂质有直接损伤作用,而且活性氧也可作为信号递质进行信号转导诱导 NF- κ B 的活化,主要机制也是通过诱使 I κ B 磷酸化解离^[4]。

许多基因的调节区有 NF- κ B 结合的位点,这些基因主要参与机体对外界应激反应如免疫反应、炎症反应和急性期反应等。受 NF- κ B 调控的基因主要有如下 5 类:细胞因子和生长因子、细胞因子受体、应激蛋白、白细胞粘附分子以及免疫调节分子等。NF- κ B 介导的基因又称为 NF- κ B 依赖的基因,比较常见的 NF- κ B 依赖基因有白细胞介素-1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-12(IL-12)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)、细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、内皮细胞选择素(E-selectin)等近百种^[5]。NF- κ B 功能多样性主要与其结构的复杂性和基因结合位点的特异性有关,也与 NF- κ B 活化过程中众多信号分子和转导途径的不同以及抑制蛋白解离时磷酸化调节的不同有重要关系。

2 NF- κ B 在多器官功能衰竭中的作用

机体在多器官功能衰竭的早期反应广泛涉及神经内分泌免疫网络,在失血性休克及脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的脓毒性休克小鼠模型中,休克的早期即出现肺、肝、脑细胞 NF- κ B 的活化,提示 NF- κ B 为 MODS 病理生理变化的启动因子^[6]。Mauriz 等^[7]观察缺血性休克小鼠模型中 NF- κ B 早期即出现,而甘氨酸可以抑制 NF- κ B 活化,改善休克早期氧化应激状态,改善抗氧化酶的功能缺陷,从而增加小鼠的存活率。Sheehan 等^[8]发现一种抗氧化剂小白菊内酯(parthenolide)对内毒素休克小鼠的肺损伤有治疗作用,其作用机理主要是抑制 NF- κ B 和 DNA 的结合。

NF- κ B 的下游靶位如 TNF α 、IL-6、单核细胞趋化因子(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等是导致 MODS 的关键媒介因子^[7,9,10]。Burdon 等^[11],对 TNF 受体蛋白基因 p55 敲除(TNF-Rc-p55 $^{-/-}$)的小鼠注射酵母多糖诱导 MODS,以阐明 TNF 在促进 MODS 发生发展的作用。研究表明,对照组小鼠发生典型症状的 MODS,发病后的 7 天中出现肺和肝组织的病理变

化,同时伴有靶器官 TNF α mRNA 的过度表达,表明器官分泌的 TNF α 对于 MODS 发生发展起重要的作用。iNOS 是 NF- κ B 依赖性的,可被活化的 NF- κ B 介导转录^[12]。一氧化氮(NO)在感染性休克中可导致严重的低血压,造成机体对各种缩血管物质的低反应性、出现心功能抑制、组织血流分布异常最终导致重要脏器血流不足,组织细胞内氧摄取障碍,发生 MODS 甚至死亡^[13,14]。NO 和超氧阴离子结合会形成毒性高 100 倍的 OONO $^{-}$,对组织细胞的损伤作用大增^[15]。IL-6 作为致炎性细胞因子中主要的一员,在 MODS 发生发展中受到极大重视。高宇红等^[16]用生物素标记的 IL-6 基因探针监测到老年多器官功能障碍综合征大鼠外周血 IL-6 mRNA 明显升高。在体外循环、急性胰腺炎患者外周血中 IL-6 的升高提示患者预后不良,有向 MODS 发展的趋势^[15]。Meduri 等^[17]通过对急性呼吸窘迫症(acute respiratory distress syndrome, ARDS)患者的治疗中发现,NF- κ B 和糖皮质激素受体- α 在炎症反应中起相反的调节作用,ARDS 时全身炎症反应可以诱导内源性的周围组织对糖皮质激素的抵抗,外源性大剂量糖皮质激素可以抑制 ARDS 患者外周白细胞 NF- κ B 与 DNA 靶位的结合,从而抑制 TNF- α 和 IL-1 β 等生成。

Altavilla 等^[18]发现环孢素可以抑制 NF- κ B 的活化,在失血性休克模型小鼠应用环孢素可以抑制 NF- κ B 的活化,同时 TNF- α mRNA 水平亦有所下降。在急性失血性休克中,NF- κ B 的早期激活可以触发炎症级联反应导致 MODS 发生。环孢素通过抑制 NF- κ B 的活化增加失血性休克模型小鼠存活率。脓毒性休克血中中性粒细胞(neutrophil, PMN)增多并激活,释放氧自由基、炎症介质,激活并损伤内皮细胞。Nolan 等^[19]发现 NF- κ B 的化学抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)可以诱导 PMN 的凋亡,证实严重创伤后抑制 PMN 的凋亡是依赖 NF- κ B 的。不仅 NF- κ B 下游靶位在 MODS 发展中起重要作用,其本身通过抑制 PMN 凋亡,导致炎症的进一步发展,进而加快 MODS 的进程。以往的研究多注重于 NF- κ B 的下游靶位在 MODS 及 MODS 中的作用,以及利用单克隆抗体、细胞因子受体拮抗剂阻断这些促炎性细胞因子作用对预防 MODS 的发生的意义,但有关的临床疗效却不明显。Liu 等^[20]在体研究 PDTC 对 LPS 诱导的脓毒症作用,证实 PDTC 可以抑制 LPS 诱导的细胞内 NF- κ B 的活化,减少在体心、肺、肝等

器官 TNF α , ICAM-1, 中性粒细胞趋化因子。而 Haudek 等^[21] 发现过度表达的 I κ B- α 可以抑制内毒素诱导的心肌功能障碍。

通过对 NF- κ B 在 MODS 早期作用认识, 揭示 MODS 早期功能细胞内信号转导途径变化, 可以在疾病的早期开始对后续病程进行可能的调控和预防, 从发病机制上解决导致 MODS 甚至死亡的难题。

参 考 文 献

- 1 Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*, 1986, 46: 705-716.
- 2 Baltimore D, Beg AA. DNA-binding proteins. A butterfly flutters by. *Nature*, 1995, 373:287-288.
- 3 May MJ, Ghosh S. Signal transduction through NF- κ B. *Immunol Today*, 1998, 19:80-88.
- 4 Thompson JE, Philips RJ, Bromage HE, et al. I κ B- β regulates the persistent response in a biphasic activation of NF- κ B. *Cell*, 1995, 80:573-582.
- 5 Baldwin AS. The NF- κ B and I κ B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14:649-683.
- 6 Altavilla D, Saitta A, Squadrito G, et al. Evidence for a role of nuclear factor- κ B in acute hypovolemic hemorrhagic shock. *Surgery*, 2002, 131(1):50-58.
- 7 Mauriz JL, Matilla B, Culebras JM, et al. Dietary glycine inhibits activation of nuclear factor kappa B and prevents liver injury in hemorrhagic shock in the rat. *Free Radic Biol Med*, 2001, 31:1236-1244.
- 8 Sheehan M, Wong HR, Hake PW, et al. Parthenolide, an inhibitor of the nuclear factor-kappaB pathway, ameliorates cardiovascular derangement and outcome in endotoxic shock in rodents. *Mol Pharmacol*, 2002, 61:953-963.
- 9 Hierholzer C, Billiar TR. Molecular mechanisms in the early phase of hemorrhagic shock. *Langenbecks Arch Surg*, 2001, 386(4):302-308.
- 10 Hawiger J. Innate immunity and inflammation: a transcriptional paradigm. *Immunol Res*, 2001, 23:99-109.
- 11 Burdon D, Tiedje T, Pfeffer K, et al. The role of tumor

- necrosis factor in the development of multiple organ failure in a murine model. *Crit Care Med*, 2000, 28:1962-1967.
- 12 Hua TC, Mochhala SM. Role of nitric oxide in hemorrhagic shock-induced bacterial translocation. *J Surg Res*, 2000, 93:247-256.
- 13 Cuzzocrea S, Zingarelli B, Sautebin L, et al. Multiple organ failure following zymosan-induced peritonitis is mediated by nitric oxide. *Shock*, 1997, 8:268-275.
- 14 Thiemermann C. Nitric oxide and septic shock. *Gen Pharmacol*, 1997, 29:159-166.
- 15 McDonald MC, Mota-Filipe H, Paul A, et al. Calpain inhibitor I reduces the activation of nuclear factor-kappaB and organ injury/dysfunction in hemorrhagic shock. *FASEB J*, 2001, 15:171-186.
- 16 高宇红, 王士雯, 余颂涛, 等. 生物素标记 IL-6 基因探针检测 MODSE 大鼠外周血 IL-6mRNA 表达水平. *中华老年医学杂志*, 1996, 16:28-29.
- 17 Meduri GU, Tolley EA, Chrousos GP, et al. Prolonged methylprednisolone treatment suppresses systemic inflammation in patients with unresolving acute respiratory distress syndrome: evidence for inadequate endogenous glucocorticoid secretion and inflammation-induced immune cell resistance to glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165: 983-991.
- 18 Altavilla D, Saitta A, Guarini S, et al. Nuclear factor- κ B as a target of cyclosporin in acute hypovolemic hemorrhagic shock. *Cardiovasc Res*, 2001, 52:143-152.
- 19 Nolan B, Collette H, Baker S, et al. Inhibition of neutrophil apoptosis after severe trauma is NF- κ B dependent. *J Trauma*, 2000, 48:599-604.
- 20 Liu SF, Ye X, Malik AB. Inhibition of NF-kappaB activation by pyrrolidine dithiocarbamate prevents *in vivo* expression of proinflammatory genes. *Circulation*, 1999, 100: 1330-1337.
- 21 Haudek SB, Spencer E, Bryant DD, et al. Overexpression of cardiac I κ B- α prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280: H962-H968.

(收稿日期:2002-03-18)

(本文编辑 周宇红)