

• 综述 •

缺氧诱导因子及其在炎症中的作用进展

朱海云¹(综述), 李银平²(审校)

(1. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193; 2. 天津市天和医院, 天津 300050)

【关键词】 炎症; 缺氧诱导因子; 研究进展; 脓毒症

中图分类号: R364.5 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2010.01.029

1992 年 Semenza 和 Wang^[1]首先报道了缺氧诱导因子-1(HIF-1), 它是在缺氧条件下哺乳动物体内产生的重要转录调节因子。HIF-1 通过调节其目标基因等途径影响糖、能量和铁的代谢, 调节血管张力, 以及低氧性肺动脉高压、缺血性心血管功能障碍、肿瘤、休克及炎症等病理生理过程^[1]。近年研究证明, HIF-1 也是一种重要的炎症调节因子, 参与调节急性炎症的过程^[2]。

1 HIF-1 的构成和靶基因

HIF-1 是由 α 亚基和 β 亚基组成的异源二聚体, 两者都属于 bHLH-PAS (basic-helix-loop-helix-per-ant-sim) 家族蛋白, 两个亚基具有以下的结构特点: ①基本的螺旋-环-螺旋区域介导二聚体形成, 形成完整的 DNA 连接区域; ②具有二聚体形成的 PAS 区域; ③羧基端一侧具有 1 个或多个有效的转录激活区域, 可直接或间接与转录起始物反应影响基因转录。 α 亚基在缺氧时上调, β 亚基为结构性表达。人 HIF-1 α 基因位于 14 号染色体 (14q21~24), HIF-1 β 基因位于 1 号染色体 (1q21)。人 HIF-1 α cDNA 全长为 3 720 bp, 开放阅读框为 2 478 bp, 编码 826 个氨基酸, 5' 和 3' 非翻译区分别为 28 bp 和 1 211 bp。小鼠 HIF-1 α cDNA 全长为 3 746 bp, 开放阅读框为 2 430 bp, 编码 810 个氨基酸, 5' 和 3' 非翻译区分别为 125 bp 和 1 188 bp, 与人的 HIF-1 α cDNA 序列有 90% 的同源性^[3]。

目前已知, 受 HIF 调控的基因有 40 多种, 如血管内皮生长因子 (VEGF)、促红细胞生成素 (EPO)、血红素氧合酶-1 (HO-1)、酪氨酸羟化酶、腺苷酸激酶、乳酸脱氢酶、血小板衍生生长因子、诱导型

一氧化氮合酶 (iNOS) 及胰岛素样生长因子等, 其主要功能包括参与糖代谢、氧运输和调节细胞的生长与凋亡^[4]。

2 HIF-1 α 的信号调节通路

HIF-1 α 是一种磷酸化蛋白, 蛋白合成时其磷酸化过程参与 HIF-1 α 亚单位的表达和稳定, 以及 HIF-1 转录活性的调节, 其至少有 3 条信号通路。

2.1 磷酸肌醇-3 激酶 (PI-3K)/Akt 途径: PI-3K/Akt 参与 HIF-1 α 的转录, 并调节 HIF-1 α 蛋白的表达和稳定性^[5]。PI-3K 通路由各种生长因子激活, 并与同源酪氨酸激酶受体持续磷酸化作用及其下游信号通路丝/苏氨酸蛋白激酶 Akt 和 FRAP (FBKP-12rapamycin 连接蛋白, 或称为 rapamycin 靶通路) 活性有关。Akt 是 PI-3K 激活的蛋白激酶 B (PKB), 是一种丝/苏氨酸激酶。

有活性的 Akt 通过启动两条不同的通路调节 HIF-1 α , 其作用对 HIF-1 α 的活化有影响。实验表明, 缺失 PI-3K 或 Akt 激酶的突变子能够阻止低氧诱导 VEGF 的过度表达, 证明 PI-3K/Akt 通路可能参与 HIF-1 的活化^[6]。因此, 在缺氧时间依赖性上, 缺氧磷酸化 Akt 能抑制 Akt 下游糖原合酶激酶 (GSK) 的功能, 经磷酸化作用增加 HIF-1 α 的稳定性和蛋白质合成^[6], 或激活 FRAP 途径导致 HIF-1 α 合成增加。

2.2 Ras/Raf-1/MEK1/细胞外信号调节激酶 (ERK) 通路: ERK 也称 p42/44 丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK), 是最早发现的一种 MAPK, 其活性受到自身苏氨酸/酪氨酸残基的磷酸化调节, 由一种双特异性蛋白激酶, 即 MAPK 激酶 (MAPKK) 完成。ERK 对 HIF-1 反式激活活性的调控途径可简单描述为 Ras—Raf [MAPKK 的激酶 (MAPKKK)]—MEK (MAPKK)—ERK1—HIF-1。ERK 磷酸化检测结果表明, 磷酸化 ERK 调节了 HIF-1 的转录活性、DNA 结合力及 HIF-1 α C 末端区域 (C-TAD) 的转录活

性区域蛋白; 而且 HIF-1 α 的磷酸化作用不在 HIF-TAD/p300 相互作用中获得, 而是由 p42/44MAPK 的功能所导致。抑制 MAPK 可能影响 HIF/p300 相互作用, 抑制 p300 的转录活性和 ERK 上游激活物 MEK1 的过表达, 能刺激 p300 和 HIF-1 α 的转录活性。基因测定和电泳迁移率变动分析 (EMSA) 实验已证实, MEK1 抑制剂 PD98059 或 ERK 突变体和 HIF-1 报告基因能限制 HIF-1 的转录活性而不影响其 DNA 结合力^[7]。

2.3 应激活化蛋白激酶/c-jun N-末端激酶 (SAPK/JNK) 途径: 哺乳动物细胞对各种伤害性刺激如化学、放射线、缺氧等有反应, 在这些因素中 p38 和 JNK1 在细胞张力及改善细胞生长和存活中发挥作用。p38 和 JNK1 是丝/苏氨酸蛋白激酶磷酸化核转录因子 (NF) 在细胞张力反应中的调节靶基因, 由缺氧激活并参与 HIF-1 α 的诱导表达, 由 p38 参与的 HIF-1 α 磷酸化抑制区位于 HIF-1 α 的 C-TAD 内。在人前列腺癌细胞 DU145 中, HIF-1 α 通过 p38 通路诱导 VEGF 的表达^[8]。

2.4 NF- κ B 信号通路: 脂多糖 (LPS) 通过信号分子激活 NF- κ B 诱导激酶 (NIK) 使 NF- κ B 抑制物激酶 (IKK) 磷酸化, 后者使 NF- κ B 抑制物 (I κ B) 磷酸化而降解, 脱离 I κ B 的 NF- κ B 进入细胞核内。有研究发现除了 NIK 外, MAPK 信号中的相关激酶 MEKK1 也通过激活 IKK 而活化 NF- κ B。此外 LPS 诱导启动肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达, TNF- α 与 LPS 进一步共同激活效应细胞的 NF- κ B 活化。Sandau 等^[9]通过猪肾小管细胞 (LLC-PK1) 转染猪巨细胞病毒感染 (pCMV)-I κ B M 质粒以表达 I κ B, 显示 TNF- α 通过 NF- κ B 途径使 HIF- α 蓄积, 维持 HIF-1 α 在蛋白化, 允许 HIF-1 和肿瘤抑制基因 (pVHL) 相互作用。

3 HIF-1 α 与炎症

炎症是机体对感染和损伤的正常反

基金项目: 天津市医药卫生中西医结合科研基金项目 (2005088)

作者简介: 朱海云 (1982-), 女 (汉族), 河北省人, 硕士研究生。

应。由于炎症区域有缺氧的特征,近年来发现了 HIF-1 α 的炎症调节作用。Yun 等^[10]报道,阻断巨噬细胞和中性粒细胞在低氧条件下的糖分解途径能够抑制炎症反应。在巨噬细胞和中性粒细胞中对 HIF-1 α 进行定点缺损后,发现这些细胞不能聚集、运动和转移到损伤组织,炎症反应因此被抑制。进一步用诱导关节炎的刺激作用用于 HIF-1 缺损的小鼠,发现不能引发相应的炎症反应。由此认为 HIF-1 α 对于炎症反应的过程非常重要。

HIF-1 α 是机体调节氧稳态的重要转录调节因子,可以调节多种基因表达,参与机体的炎症反应。在脑、脊髓的创伤和缺血损伤以及多发性硬化模型中,EPO 的抗炎作用已得到验证。小胶质细胞激活后可上调多种表面受体,释放大量的促炎症因子。EPO 通过调节小胶质细胞的激活以及控制细胞因子的释放,从而维持细胞内环境的稳定。此外,EPO 通过抑制一些促炎因子,如白细胞介素-6(IL-6)、TNF- α 和单核细胞趋化蛋白-1 的产生,以及抑制炎症细胞聚集而直接参与细胞炎症反应^[11]。Jung 等^[12]研究还发现,iNOS 基因增强子的 DNA 序列中存在与 HIF-1 α 结合的特定位点,在低氧条件下能够促进 iNOS 基因的表达,同时还发现 IL-1 β 对 HIF-1 α 诱导 iNOS 基因的表达有协同作用。HIF-1 α 能迅速诱导 iNOS 基因的表达,并产生大量的一氧化氮(NO),从而参与炎症反应和免疫调节的过程。

缺氧是 HIF-1 α 表达的经典刺激因素。一些非缺氧因素也能刺激 HIF-1 α 的表达,如生长因子、血管活性物质、细胞因子及其他理化因素。如胰岛素样生长因子-1、胰岛素、血管紧张素、内皮素-1、IL-1 β 和 TNF- α 等细胞因子。而且有些非缺氧因素诱导 HIF-1 α 表达的能力甚至超过了缺氧刺激,其中细胞因子是最重要的非缺氧调节因素。Hellwig-Bürgel 等^[13]发现 IL-1 β 、TNF- α 能激活 HIF-1,诱导关节炎中巨噬细胞 HIF-1 α 的产生。正常骨髓中无 HIF-1 α 表达;在炎症骨髓中有阳性表达,认为在骨髓炎中,缺血、缺氧诱导 HIF-1 α 产生,并被炎症因子激活,使 HIF-1 α 在上游水平调控 NF- κ B、iNOS、VEGF 表达^[14]。在缺氧条件下可能存在“炎症—炎症介质—HIF-1 α —炎症介质—炎症”的正反馈环,HIF-1 α 在其中起着放大炎症的作用。

4 HIF-1 α 与脓毒症

脓毒症是一组由感染引起的失控性全身炎症反应,也是诱发脓毒性休克、多器官功能障碍综合征的重要原因。脓毒症的发病不仅与炎症失控有关,还涉及到免疫系统、凝血系统、内分泌调节及其之间的相互作用,而炎症失控是脓毒症发病重要环节。目前脓毒症的发病率居高不下,缺乏行之有效的治疗方法。

Peyssonnaud 等^[15]提出 HIF-1 α 可能作为一种新的治疗靶向,将能很大程度上改善 LPS 诱导脓毒症患者的不良预后。在脓毒症形成过程中,HIF-1 α 能够促进巨噬细胞介导的炎症细胞因子 TNF- α 的分泌活性。HIF-1 在 Toll 样受体 4(TLR4)通路中被 LPS 激活,增强了炎症因子的活性,从而使 TNF- α 进一步促进 HIF-1 α 表达的增加。HIF-1 α 活化后又可诱导细胞因子以及炎症介质的产生。因此,TNF- α 和 HIF-1 可能存在于一个正反馈环,有相互促进作用。Jung 等^[16]研究表明,常氧条件下,TNF- α 诱导细胞内 HIF-1 α 蛋白的积聚依赖于受体互动蛋白(RIP)途径,TNF- α 对常氧细胞内 HIF-1 α 的诱导是在蛋白水平,但还有赖于 NF- κ B 的转录调节。Blouin 等^[17]报道,LPS 能提高巨噬细胞内的 HIF-1 α 水平、HIF-1 DNA 结合活性及 HIF-1 依赖的基因表达。相对于低氧反应,LPS 的这种效应比较缓慢,依赖于蛋白激酶 C(PKC)信号途径,并伴有 HIF-1 α mRNA 表达上调。但对 LPS 诱导 HIF-1 α 活化是由 LPS 直接作用引起还是由巨噬细胞分泌的 IL-1 和 TNF- α 间接介导,还有待于进一步研究。

5 展望

认识 HIF-1 α 在炎症调节中的诸多作用和影响,可以发现治疗炎症的新靶点。尽管 HIF-1 α 并不是引起炎症的始发因素,但是炎症区域 HIF-1 α 的表达可能会加重炎症病情的发展,加重炎症对组织的损害。由于脓毒症是严重的全身性炎症,是组织器官的多发性化脓性病灶的缺氧状态,HIF-1 α 的出现可能会加重病变的进展。研究 HIF-1 α 在脓毒症发展中的作用,可能有助于发现新的治疗脓毒症的靶点。尽管 HIF-1 α 与脓毒症相关,对于 HIF-1 α 通过何种机制加重脓毒症,炎症因子的产生是否与脓毒症低氧过程及 HIF-1 α 诱导等相关问题还需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol*, 1992, 12 (12): 5447-5454.
- [2] Albina JE, Mastro francesco B, Vessella JA, et al. HIF-1 expression in healing wounds: HIF-1 alpha induction in primary inflammatory cells by TNF-alpha. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 281(6): C1971-1977.
- [3] Lyer NV, Leung SW, Semenza GL. The human hypoxia-inducible factor 1 alpha gene: HIF-1 α structure and evolutionary conservation. *Genomic*, 1998, 52 (2): 159-165.
- [4] Freret T, Valable S, Chazalviel L, et al. Delayed administration of deferoxamine reduces brain damage and promotes functional recovery after transient focal cerebral ischemia in the rat. *Eur J Neurosci*, 2006, 23(7): 1757-1765.
- [5] Burroughs KD, Oh J, Barrett JC, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase and mek1/2 are necessary for insulin-like growth factor-1-induced vascular endothelial growth factor synthesis in prostate epithelial cells: a role for hypoxia-inducible factor-1? *Mol Cancer Res*, 2003, 1(4): 312-322.
- [6] Mottet D, Dumont V, Deccache Y, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha protein level during hypoxic conditions by the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 beta pathway in HepG2 cells. *J Biol Chem*, 2003, 278 (33): 31277-31285.
- [7] Sang N, Stiehl DP, Bohensky J, et al. MAPK signaling up-regulates the activity of hypoxia-inducible factors by its effects on p300. *J Biol Chem*, 2003, 278(16): 14013-14019.
- [8] Poellinger L, Johnson RS. HIF-1 and hypoxic response: the plot thickens. *Curr Opin Genet Dev*, 2004, 14(1): 81-85.
- [9] Sandau KB, Zhou J, Kietzmann T, et al. Regulation of the hypoxia-inducible factor-1 alpha by the inflammatory mediators nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha in contrast to desferoxamine and phenylarsine oxide. *J Biol Chem*, 2001, 276(43): 39805-39811.
- [10] Yun Z, Maecker HL, Johnson RS, et al. Inhibition of PPAR gamma 2 gene expression by the HIF-1-regulated gene DEC1/Stral3: a mechanism for regulation of adipogenesis by hypoxia. *Dev Cell*, 2002, 2(3): 331-341.
- [11] Maiese K, Li F, Chong ZZ. Erythropoietin in the brain: can the promise to

- protect be fulfilled? Trends Pharmacol Sci, 2004, 25(11): 577-583.
- [12] Jung F, Palmer LA, Zhou N, et al. Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes. Circ Res, 2000, 86(3): 319-325.
- [13] Hellwig-Bürgel T, Rutkowski K, Metzen E, et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha stimulate DNA binding of hypoxia-inducible factor-1. Blood, 1999, 94 (5): 1561-1567.
- [14] 刘金波, 丁俊清, 王莉. 炎症牙髓中缺氧诱导因子-1 α 的免疫组化研究. 临床口腔医学杂志, 2003, 19(2): 77-78.
- [15] Peyssonnaud C, Cejudo-Martin P, Doedens A, et al. Cutting edge: essential role of hypoxia inducible factor-1 alpha in development of lipopolysaccharide-induced sepsis. J Immunol, 2007, 178 (12): 7516-7519.
- [16] Jung Y, Isaacs JS, Lee S, et al. Hypoxia-inducible factor induction by tumour necrosis factor in normoxic cells requires receptor-interacting protein-dependent nuclear factor kappa B activation. Biochem J, 2003, 370(Pt 3): 1011-1017.
- [17] Blouin CC, Pagé EL, Soucy GM, et al. Hypoxia gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor-1 alpha. Blood, 2004, 103(3): 1124-1130.
- (收稿日期: 2009-11-20)
(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

腹腔镜阑尾切除术 347 例治疗体会

姜成文, 宋希江, 胡明秋

(天津海洋石油总医院普外科, 天津 300452)

【关键词】 阑尾切除术; 腹腔镜检查; 胆囊切除术, 腹腔镜

中图分类号: R574. 61 文献标识码: B DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-9691. 2010. 01. 030

本科 2000 年至 2009 年共行腹腔镜阑尾切除术 347 例, 现将治疗体会总结如下。

1 临床资料

1.1 一般资料: 347 例中男 182 例, 女 165 例; 年龄 12~73 岁, 平均 45 岁; 急性单纯性阑尾炎 97 例, 急性化脓性阑尾炎 221 例, 慢性阑尾炎 22 例, 坏疽穿孔性阑尾炎 5 例, 阑尾周围脓肿 2 例; 合并胆囊结石、慢性胆囊炎 11 例, 胆囊息肉 6 例, 卵巢、输卵管系膜囊肿 14 例, 子宫肌瘤 9 例, 急性化脓性盆腔炎 17 例, 肝囊肿 3 例; 有盆腔手术史 15 例, 上腹部手术史 11 例。

1.2 治疗方法: 根据患者病情需要采取下列手术方式, 在腹腔镜胆囊切除的同时行阑尾切除; 在腹腔镜阑尾切除的同时行卵巢囊肿切除等盆腔手术。

1.3 结果: 347 例患者均行腹腔镜阑尾切除术, 其中 1 例行阑尾周围脓肿冲洗引流术, 17 例盆腔化脓致阑尾炎为继发性炎症改变者行阑尾切除加盆腔置管引流, 4 例中行开腹阑尾切除术 (其中 1 例为阑尾根部穿孔, 1 例为阑尾周围脓肿, 2 例为腹膜后阑尾炎)。术后有便血 5 例, 未进行特殊处理 3 d 后自行消失。术后无内出血、肠内瘘及粘连性肠梗阻发生。患者术后均给予抗生素治疗, 且均治愈出院, 平均住院 4.6 d。

作者简介: 姜成文 (1967-), 男 (汉族), 山东省人, 副主任医师。

2 讨论

2.1 腹腔镜阑尾切除术的优点: 腹腔镜阑尾切除具有创伤小、痛苦少、术后恢复快等优点。与传统开腹阑尾切除术相比, 腹腔镜阑尾切除术探查范围广泛, 对于术前不能明确诊断的患者, 可通过腹腔镜的探查而明确诊断, 同时又可根据情况进行相应的治疗, 具有诊断和治疗双重作用, 且可多病同治。

2.2 腹腔镜阑尾切除术的经验

2.2.1 麻醉的选择: 本组采用高位硬膜外麻醉来代替传统腹腔镜阑尾切除术的全麻取得了成功。硬膜外麻醉基本能满足腹腔镜阑尾切除的需要, 如麻醉不满意可改为全麻, 本组有 4 例患者术中麻醉不满意而转全麻完成了手术。对于合并胆囊结石、胆囊息肉、子宫肌瘤等需行胆囊切除、子宫切除者, 应采用全麻。

2.2.2 气腹问题: 建立气腹时, 应先予低流量二氧化碳 (CO₂), 患者适应后再调至中、高流量。气腹压力一般在 6~9 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa) 即可满足手术需要。但 CO₂ 可刺激壁层腹膜的内脏神经或躯体神经而引起疼痛。因此, 术后可采用反复挤压患者的胸部和腹部的方法, 排尽腹腔中的 CO₂, 这样就可大大减轻术后 CO₂ 引起的疼痛。

2.2.3 阑尾系膜的处理: 本组患者使用“防波堤技术”, 先电凝后切断阑尾系膜, 直至阑尾根部。此方法不增加手术难度, 不延长手术时间, 不使用钛夹, 也避免了

异物残留且止血效果可靠, 手术操作简单, 未出现术后内出血等并发症。如果系膜短粗、充血和水肿明显, 也可用可吸收线结扎阑尾动脉, 但此方法技术要求高, 需要有熟练的镜下打结技术。在切开后膜两侧的浆膜后, 尽量紧贴阑尾分离系膜。因为此处血管很少, 分离时很少出血, 视野清晰。

2.2.4 阑尾根部的处理: 阑尾系膜处理完成后, 距盲肠 3 mm 和 10 mm 处分别用两个 Roder 线圈套扎阑尾, 在套扎线间切断阑尾, 并电灼破坏残端黏膜, 减少阑尾残株炎的发生率。如果阑尾根部明显水肿、质脆, 结扎时可发生阑尾切割情况, 但如果阑尾黏膜仍保持完整, 可不予处理, 也可在切除阑尾后, 将系膜或脂肪垂缝合至阑尾残端处, 覆盖阑尾残端。对于阑尾周围脓肿、阑尾根部穿孔致盲肠壁明显充血水肿时, 腹腔镜处理较困难, 不应强行追求, 应及时中转开腹手术。

2.2.5 阑尾的取出: 较细的阑尾可直接从腹套管中取出。若阑尾系膜较多或阑尾较粗时, 可分离成小块后取出, 不可强行扩张穿刺孔以免并发穿刺孔感染。

总之, 硬膜外麻醉下的腹腔镜阑尾切除术安全、可行、并发症少, 越来越多地应用于临床, 特别适合老年人、肥胖、腹痛原因不明的腹膜炎患者, 其前景广阔, 值得临床推广。

(收稿日期: 2009-10-21)

(本文编辑: 李银平)