维普资讯 http://www.cqvip.com

84-87

钙离子，肝细胞损害与修复，用于细胞损害

胞内钙离子平衡与肝细胞损害及抗损害研究进展

R362
R575.02

医学检验系　徐　勇　综述　涂植光　审校

中图分类号　R329.27

钙离子是细胞内重要的第二信使物质，它可作为许多酶类的调节因子及激素、细胞因子的效应因子，广泛参与细胞的生理活动。Ca^{2+}的代谢紊乱将导致细胞可逆或不可逆损害。近年，随着胞内游离 Ca^{2+}（Ca^{2+}_i）测定技术的改进，对细胞钙离子通道的认识及对跨膜信息系统的研究不断深入，对 Ca^{2+}_i 失衡导致的肝细胞损害机制的认识也取得了进展，并为有效的抗损害机制的研究提供了有利条件[1,2,3]。

1　肝细胞内 Ca^{2+} 平衡的调节

生理状态下，肝细胞内 Ca^{2+} 的浓度维持在 0.1～0.4μmol/L 的范围内，而一般哺乳动物细胞外 Ca^{2+} 浓度 > 2mmol/l，故细胞内、外 Ca^{2+} 浓度差近 4 个数量级，少量胞外 Ca^{2+} 内流即可致 Ca^{2+}_i 浓度的大幅升高，从而引起明显的细胞生理功能的改变，所以有人把 Ca^{2+}_i 称为一种新的胞内第二信使[3,4]。肝细胞内 Ca^{2+}_i 浓度的调节主要依靠以下两大途径：

1.1　肝细胞膜上 Ca^{2+} 转运及调节

不同组织，甚至不同类型细胞间的胞膜 Ca^{2+} 转运均有不同。肝细胞中，一般认为 Ca^{2+}

率。特别是在国际国内及各地区流动人群日益增多的今天，临床工作者应加强对该疾病的认识和重视。

由于疟原虫在贮存血液中存活的时间长，在冰冻 RBC 中可存活数年[5]，在 4℃至少可存活 14 天[6]，且传入人体的疟原虫既寄生于 RBC 中，又存在于浓缩血小板、浓缩 WBC 及冷沉淀之中[5]。故输全血或血液成分均有传播疟疾的危险，加之目前常规开展献血者疟原虫筛检尚有一定难度。故预防输血性疟疾比较困难。为减少输血后疟疾，应注意：(1) 有疟疾病史者，须在病愈 3 年后才能献血，凡到过流行区暂住或旅游者（既未服药，又无症状时），6 个月后才能献血；(2) 有条件的采、供血单位，应开展献血者血清疟原虫抗体检查；(3) 对输入疑有疟原虫污染血液的患者或在疟疾流行区的受血者，均应服用抗疟药物，以预防其传染。

参　考　文　献

1. 赵慰先，主编．人体寄生虫学　北京：人民卫生出版社，1994：148
2. 上海第一医学院主编．实用内科学　北京：人民卫生出版社 1975：241
3. 肖星甫．输血和血库手册 四川省卫生厅 1982：80
4. 柏乃庆．近代输血　北京：科学出版社 1989：459
5. 肖星甫，主编．输血技术手册　四川：科学技术出版社 1992：381
6. 张之南．输血及输血反应　北京：华夏出版社 1988：40

（收稿日期 1995－05－18）

维普资讯 http://www.cqvip.com

外流与 Ca^{2+}、Mg^{2+}—ATP 酶（钙泵）有密切关系。从大鼠肝细胞膜上已提取出这种酶，它与其它细胞膜上的钙泵有所不同：活性高，亲和力高（$k_m \leq 0.5\mu mol/L$），不需 Na^+，并可被药理学浓度的胰高血糖素所抑制，这种抑制与腺苷酸环化酶的激活及胰高血糖素引起的磷脂酶 C 的激活没有联系。有人提出，钙调素可能通过与 Ca^{2+}、Mg^{2+}——ATP 酶的 C 端结合来调节它的活性。但也有人认为肝细胞膜上这种高亲和力的 Ca^{2+}、Mg^{2+}——ATP 酶不是一个钙泵[5,6]。另外，肝细胞膜上 $Na^+/(Ca^{2+}、Na^{2+}/H^+)$交换功能性的偶联也可能在肝细胞 Ca^{2+}平衡中起了重要作用[22]。

近来，人们对肝细胞膜上 Ca^{2+}通道的研究有了进一步深入。最初认为，肝细胞中 Ca^{2+}内流是由于激动剂直接刺激细胞膜上受体，激活 Ca^{2+}通道，或是受体被刺激后，激活了与鸟苷结合蛋白（G 蛋白）偶联的 Ca^{2+}通道，它们分别称为受体操纵通道（Recepter operated channel, ROC）和 G 蛋白操纵通道（G.protein－operated channel, GOC）。后来发现，许多激素，细胞因子与各自的受体结合，可引起肝细胞内 Cai^{2+}升高。这些受体统称为钙动员受体（Ca^{2+}—mobiling recepter, Ca^{2+}—MR），它们被激活后可与一种未知的 G 蛋白结合，活化与之偶联的磷脂酶 C，水解位于胞内膜的肌醇—1,4—二磷酸酯（PIP_2）产生两种第二信使物质，肌醇—1,4,5—三磷酸酯（IP_3）和甘油二酯（DG）。由这些第二信使激活的 Ca^{2+}通道称为 SMOCs（Second messenger－operated channels）。现认为 IP_3 可通过以下途经使胞内 Cai^{2+}升高：〈1〉IP_3 可与胞内非线粒体 Ca^{2+}贮库如内质网膜上的 IP_3 受体结合，激活其上的 SMOCs，引起内贮 Ca^{2+}释放、耗竭，从而刺激胞外 Ca^{2+}内流来补充，这种内流称为容量性 Ca^{2+}内流模式（the capacitative Ca^{2+} entry model）[7]。最近，应用电生理学研究方法，提出了另一种类型的容量性 Ca^{2+}内流机制，它的激活并不需要受体占领，而与一种未知的第二信使物质—Ca^{2+}内流因子（Ca^{2+}－influx factor, CIF）有关，并受内贮 Ca^{2+}库的容量的调控，人们称这种 Ca^{2+}通道为 Ca^{2+}释放激活的 Ca^{2+}通道（Ca^{2+}—release activated Ca^{2+} channel, CRAC）[8,9]。〈2〉IP_3 可直接与肝细胞膜上的 IP_3 受体结合，激活胞膜上的 $SMOC_s$，引起胞外 Ca^{2+}内流。也有人提出 IP_3 受体本身就是一个 Ca^{2+}通道。至于磷酸肌醇其它代谢产物是否参与了激活 $SMOC_s$，现在尚不清楚。另一产物 DG 可激活蛋白激酶 C（PKC），参与胞体内一系列蛋白磷酸化过程。至于肝实质细胞上是否存在电压操纵型 Ca^{2+}通道现尚有争论，最近已证实在大鼠肝细胞 mRNA 中有一种是编码电压操纵型 Ca^{2+}通道的[9]。

肝脏是循环中儿茶酚胺的重要靶组织，肝细胞膜上主要的肾上腺素受体为 α_1 和 β_2 亚型，α_1 肾上腺素可分为 α_{1a}、α_{1b}、α_{1c}、α_{1d}、亚型，它们主要以 IP_3/DG 为效应因子影响胞内 Cai^{2+}，α_{1a} 受体可通过毒素敏感性 G 蛋白与膜上 PLA_2 偶联，α_{1b}、α_{1c} 则通过毒素非敏感性 G 蛋白与膜上 PLC 偶联[10]。有报导大鼠肝细胞膜上 Ca^{2+}内流主要由 α_{1b} 肾上腺素受体介导[11]。用 β—肾上腺素激动剂、胰高血糖素、forskolin 和各种细胞通透性 cAMP 衍生物可激活 cAMP 依赖性蛋白激酶（PKA），它的激活可增强 IP_3 敏感性 Ca^{2+}通道的作用，提示在刺激胞外 Ca^{2+}内流的作用中，α_1、β_2 受体存在着协同作用[12,13]。

另外，钙动员激素也可通过刺激胞内 Cai^{2+}外流来调节胞内 Cai^{2+}浓度[14]。

在对肝细胞有影响的细胞因子中，有报导表皮生长因子（EGF）可通过其胞膜上的受体的酪氨酸激酶片段磷酸化并激活磷脂酶 C—r（PLC—r），促使 IP_3 产生，释放内贮 Ca^{2+}。其它的细胞因子如肝细胞生长因子（HGF），可能也有类似作用[3]。

1.2 肝细胞内贮 Ca^{2+}的分布与调控

肝细胞内大部分 Ca^{2+}与钙结合蛋白结

维普资讯 http://www.cqvip.com

合，剩余的通过隔离化(compartmentation)作用存在于内质网中，少部分存在于线粒体等细胞器中。在 IP_3 产生后，可与非线粒体性的 Ca^{2+} 贮库，如内质网膜上 IP_3 受体结合，开放 $SMOC_s$，引起胞内 Cai^{2+} 短暂的升高[7]。另外，内质网膜上的 Ca^{2+}、Mg^{2+}—ATP 酶是控制内质网中 Ca^{2+} 传递的重要因素，但迄今为止缺乏控制此酶活性的证据，它含有一个—SH 基团，故细胞的氧化还原状态可能控制它的活性，CaM 可能也是调节其活性的因素之一[8,9]。

在肝细胞中，有证据表明，存在多重非线粒体 Ca^{2+} 库，只有部分内贮 Ca^{2+} 库对 IP_3 敏感，至于非 IP_3 敏感 Ca^{2+} 库，则可能是由 Ca^{2+} 泵活性调控的独立的膜分区结构。胞内 Cai^{2+} 通过这些多重 Ca^{2+} 库间的特性来调整自己的流动，IP_3 的代谢物 IP_4 可能参与了其中的调节[15,16]。

2 Ca^{2+} 失衡与肝细胞损害

病理状态下，细胞坏死最明显的病理学标志是胞内 Ca^{2+} 蓄积，人们认为这是细胞坏死的“共同的最后通路”。动物实验表明，肝细胞坏死区有明显的 Ca^{2+} 沉积，并且急性肝损害 Ca^{2+} 沉积多于慢性肝损害。Nathanson 等人用 A23187(一种钙离子载体)灌注肝脏后，也发现肝脏表面有斑点状坏死[13]。许多肝细胞毒性药物在培养的肝细胞中要通过胞外 Ca^{2+} 的存在才表现毒性，但也有不同报导。应用钙螯合剂 Calcion、Arsena20 Ⅲ均能有效地预防 CCl_4 引起的肝坏死。用 Ca^{2+} 敏感性蛋白水母素(aequorion)载入技术发现，肝细胞内 Cai^{2+} 升高可导致胆汁排泄障碍[17,18]。

胞内 Cai^{2+} 升高导致肝细胞损害是一个复杂的过程，它可直接或通过 Ca^{2+}—CaM 依赖性过程激活一些 Ca^{2+} 或 CaM 依赖性的降解酶类。CaM 是一种胞内主要的 Ca^{2+} 结合蛋白，它可作为胞内 Ca^{2+} 受体参与许多反应的调节，目前已知至少有 20 种重要代谢酶类受 CaM 调节。现多认为磷脂酶 A_2(PLA_2)的激活对 Ca^{2+} 有依赖性，肝细胞膜和线粒体膜上的 PLA_2 激活后可降解 β—位脂肪酸，水解膜磷脂成为具有生物活性的溶血卵磷脂和花生四烯酸，引起生物膜损害，通透性升高，进一步加重胞内 Cai^{2+} 升高，使胞内需能的 Ca^{2+} 转运系统失控，线粒体内代偿性 Ca^{2+} 蓄积，从而激活 ATP 合成酶的抑制剂，使 ATP 合成减少。在缺氧后再供氧引起的肝损害中，Cai^{2+} 升高可使分子氧激活，产生氧自由基，加重肝损害。化学损伤后，Cai^{2+} 升高还能活化核酸内切酶，引起 DNA 断裂。显微摄影研究表明，胞内 Cai^{2+} 升高可能促使细胞膜、核膜上的小泡形成，其破裂后释放出胞液酶，造成肝细胞不可逆的损害[19]。

3 抗损害机制的研究——钙拮抗药物

抗损害机制的研究着重于最终阻止肝细胞内 Ca^{2+} 升高，或妨碍 Ca^{2+} 与胞内钙受体蛋白结合的药物的研究。从 70 年代起，人们陆续发现了一大批药物可以多种方式影响胞内 Ca^{2+} 代谢，由于作用机制未明，尚无一个普遍接受的名称确切描述此类药物。

早期的研究多为针对心血管疾病的用药，称为钙通道阻滞剂(CCB)，这一类药主要是针对电压操纵型钙通道，特异性地抑制 L 型钙通道。而肝细胞膜显然是受体激活性钙通道占主流，故在肝细胞抗损害研究中应用这类药物效果并不显著，但也存在有不同看法[20]。

另一类研究较多的是 CaM 拮抗剂，它是一类可抑制 CaM 对靶酶活化的药物，CaM 对靶酶的活化作用与 CaM 拮抗剂对 CaM 与靶酶的竞争性结合力之间存在线性关系。目前所发现的众多 CaM 拮抗剂中，以氯丙嗪、三氟拉嗪为代表的抗精神病药物对 CaM 的拮抗作用最强，动物实验中，它们对 CCl_4、内毒素引起的肝损害有明显的保护作用。但是有人提出肝细胞内 Ca^{2+}—CaM 复合物的水平很低，因此，它在细胞毒性中发挥的作用可能是有限的。关于 CaM 拮抗剂对肝细胞坏死的保

维普资讯 http://www.cqvip.com

87-90

糖尿病，胰岛素，分泌阴离子的作用

糖尿病胰岛外内分泌腺功能及形态学改变

R587.102

第一医院内分泌科 刘 纯 综述 舒昌达 审校

中图分类号 R587.102

众所周知，糖尿病主要病理、生理异常是体内胰岛素（Insulin INS）绝对或相对不足引起糖代谢紊乱为主的代谢障碍。随着糖尿病发病机理的深入研究，在糖尿病的发生、发展过程中，胰岛外其他内分泌腺功能和形态异常也日益受到人们重视。本文概述糖尿病时胰岛外内分泌腺（包括：下丘脑——垂体——甲状腺轴；下丘脑——垂体——性腺轴；肾上

3. Akira Kaneko, et al. Hepatology. 1992;15:1173
4. Melddesi, J. et al. Exp Cell Res. 1987;171:271.
5. Gary Fiskum. Cell Calcium Metabolism. New York: Plenum Press; 1989; 3-21.
6. Irvin, R. et al. FEBS Lett. 1990;263:5.
7. Putney J.W. et al. Cell Calcium. 1990;11:611.
8. Hoth, M. et al. Nature 1992;355:353.
9. Randriamampita, C. Nature. 1993;263:809.
10. Carlo Taddei, et al. Life Sci 1993;53(12):PL177.
11. Nomrura, T. et al. B Eur J Pharmacol 1993;246(2):163.
12. Hajnoczky G. et al. Biochem J 1993;293:413.
13. Bygrave, F. et al. Biochem J 1993;292:19.
14. Duddy, M.J. et al. J Biol Chem 1989;264:20863.
15. Shashan-Barmats, V. et al. Biochem J. 1990;268:699.
16. Jacques Noel. et al. Biochem J. 1990;268:699.
17. Iton, S. et al. J Hepatol. 1992;15:414
18. Nathanso, n.H. et al. Hepatology. 1992;15:107
19. Gergory, J. et al. Hepatology. 1990;11:690
20. Hanson, C.A. et al. J Biol Chem. 1991;266:18537
21. Graic, E. et al. Hpatology. 1989;10:375
22. Elena, U. et al. J Biol Chem. 1994;269(2):860
23. Maitra, S.R. et al. Circ Shock. 1992;37:317.

（收稿日期 1995-09-30）

护作用尚在进一步研究中[21]。

在研究 CaM、PLA_2 拮抗剂过程中，人们发现 α_1 肾上腺素受体拮抗剂可能对肝细胞有强大的保护作用。随着对肝细胞跨膜信息系统的认识不断深入，认识到激动剂—α_1 肾上腺素受体—G 蛋白跨膜信息系统引起的 IP_3 增多与胞内 Ca_i^{2+} 升高有直接关系[10,11]。有趣的是，一些被认为是 CaM、PLA_2 拮抗剂而有肝细胞保护作用的药物都有强大的抗 α_1 肾上腺素受体作用。由于这类药物的保护效应是由于其微血管舒张作用改善微循环，还是由于其阻断跨膜信息通路而降低胞内 Ca_i^{2+} 水平或两种功能均起了作用，现尚有争论。国外已有研究者将 α_1 肾上腺素受体拮抗剂用于实验性内毒素休克大鼠治疗中，发现其肝细胞内 Ca_i^{2+} 明显下降，生存率有很显著的提高[23]。因此，急性肝损害中 α_1 肾上腺素受体拮剂的抗损害研究有着广阔的前景。

参 考 文 献

1. Badeg, H. et al. Intracellular Calcium Regulation. Oxford: Manchester Univ Press; 1986, 1-50.
2. Gutfreunel, H. et al. Intracellular Calcium. Its Universal roles as regulator. N.Y. Wiley Press; 1983, 1-95.