DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.23.034
第26卷第23期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 23
2168 2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

综述

文章编号:1000-5404(2004)23-2168-03

烧伤后失控性炎症反应的巨噬细胞信号转导机制研究进展

Advances in studies of macrophage signal transduction mechanism of postburn uncontrolled inflammation

彭代智 综述,黄文华 审校 (第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

严重烧伤后出现的多器官功能不全综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)及感染是烧伤患者的主要死亡原因,而伤后免疫功能异常又与这两种致命性并发症的发生发展关系密切。临床与实验研究均表明,严重烧伤后机体免疫功能的异常表现为以炎症反应增强为代表的免疫反应过度和以淋巴细胞功能受抑为代表的免疫应答低下,我们首先提出了免疫功能紊乱(immune dysfunction)的概念来加以概括[1]。之后我们进一步从巨噬细胞(macrophage, MΦ)着手研究了烧伤MΦ后非特异性和特异性免疫功能的变化与中性粒细胞和淋巴细胞的关系,证实MΦ是伤后免疫功能紊乱发生机制中的重要始动因素[1]。严重烧伤后MΦ生成过多的TNF-α、IL-1和IL-6等促炎细胞因子不仅介导机体的炎症反应,引发全身炎症反应综合征(SIRS),而且还是进一步导致脓毒症、脓毒性休克和MODS的重要原因之一。MΦ也分泌许多抗炎细胞因子,如IL-10作为一种重要的细胞因子合成抑制分子,具有强大的抗炎作用,抑制MΦ释放TNF-α,提高IL-1受体拮抗剂(IL-1Ra)的含量。有文献报道,脓毒症时MΦ分泌IL-10相对不足。因此,我们推测烧伤后MΦ合成及分泌的致炎/抗炎细胞因子(分别以TNF-α和IL-10为代表)失衡可能在烧伤后失控性炎症反应的发生中扮演一个关键性的角色[2]。国内外虽有烧伤后MΦ分泌炎症介质功能失常的报道,但很少涉及其分子机制研究[2,3]。可见,从细胞信号转导的角度研究严重烧伤后MΦ分泌炎症介质功能失常的分子机制及其调控措施具有重要的医学理论意义及实践意义。我们以小鼠18%TBSA Ⅲ度烫伤为模型,采用细胞信号转导与炎症介质的分泌、机制探讨与实验性治疗相结合的方法,较系统地对腹腔MΦ进行了以下4个方面的研究。

1 烧伤后MΦ跨膜信号转导的变化规律

通过动物实验观察证明,在烧伤、应激、缺血缺氧等因素的作用下,伤后早期MΦ跨膜信号转导出现了明显的异常。MΦ胞膜的信号分子如蛋白酪氨酸激酶(PTK)、GTP酶(反映G蛋白功能)及膜蛋白激酶C(PKC)在烧伤后早期依次被迅速激活,其中膜PKC及GTP酶的高活性状态分别延续到伤后48 h及72 h,表明MΦ的跨膜信号系统在烧伤后早期处于持续活化状态。具体的变化如下。

烧伤后MΦ的PTK活性在伤后2 h明显增高,12 h却又显著下降;伤后6~72 h膜GTP酶的活性明显升高,表明G蛋白被迅速激活,处于持续活化状态[4,5]。胞膜PKC在伤后早期被活化,在伤后12 h呈显著增高,其活性一直增高,持续到伤后48 h,达到高峰,表明烫伤后早期MΦ的胞浆PKC发生迅速的膜转位[6]。实验还显示,烫伤后血浆中补体的趋化活性在伤后30 min迅速增高,6 h达到高峰,24 h开始下降[7]。用眼镜蛇毒素因子(CVF)体内灭活补体可使烧伤后MΦ的GTP酶活性明显下降,表明烫伤后迅速活化的补体是MΦ G蛋白活化的一个重要因素[5]。

2 烧伤后MΦ胞内信号传递系统的变化规律

我们较系统地研究了烧伤后MΦ胞内信号传递系统的变化,其规律是烫伤后MΦ胞内信号途径明显被激活,通过PKC-IκB途径和MAPK途径分别介导了NF-κB和核转录因子活化蛋白1(AP-1)的核转位,启动相关细胞因子基因的转录;烧伤后MΦ NF-κB信号途径的激活稍早于MAPK信号途径。具体的变化如下。

胞浆内PI-PLC酶活性在烧伤后12、24 h显著高于对照组,而伤后6、48 h却显著低于对照组[4,6]。胞浆内[Ca^{2+}]在伤后12~24 h显著升高[1,4,6]。胞浆PKC活性在伤后2 h明显活化,后逐步下降[4,6]。IκB-α的mRNA表达则于伤后2h即明显降低,后逐步升高,到24 h明显增高,一直持续到伤后48 h;而核内NF-κB于伤后2~48 h被明显激活,于2 h及12 h出现了两次高峰,以后逐步降低[8,9],表明在伤后2 h时由于PKC引起IκB-α磷酸化,IκB-α与胞内NF-κB二聚体解离,继发核转位,与DNA结合活性明显增强,启动NF-κB相关基因的转录。由于NF-κB的持续活化而反馈性地引起伤后24 h IκB-α基因表达上调,使IκB-α在高水平上与NF-κB维持着一种制约关系。电泳迁移率改变分析法(EMSA)显示,AP-1于伤后2~6 h明显活化,其活化达峰时间晚于NF-κB[9,10],表明烧伤后MΦ MAPK信号途径的激活稍晚于NF-κB信号途径。

3 烧伤后MΦ分泌炎症介质功能失常的细胞信号转导机制

我们在烧伤后MΦ细胞信号转导的规律研究基础上,以MΦ分泌的主要炎症介质为对象,应用某些信号分子的特异性抑制剂或激动剂来研究MΦ分泌炎症介质功能紊乱的分子调控机制。我们的结果表明,严重烧伤后产生失控性炎症反应,

作者简介:彭代智(1963-),男,四川省中江县人,博士,主任医师,教授,主要从事烧伤免疫、皮肤修复重建等方面的研究,发表论文50余篇。
电话:(023)68754176

收稿日期:2004-09-10;修回日期:2004-11-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

其中, MΦ 致炎因子 TNF-α 的表达持续增高, 而烧伤早期 IL-10 呈下降趋势[1, 10, 11]。烧伤后 MΦ 表达与分泌 TNF-α 的过度增多主要受 G 蛋白持续活化的 DAG-PKC 信号途径及 PKC-NF-κB 通路的共同调控[5, 6, 11]; G 蛋白信号通路中刺激型 G 蛋白(Gs)途径则主要影响了补体对 MΦ 分泌 TNF-α 的调控[12]。就 IL-10 而言, MAPK 通路为烧伤后 MΦ 活化并分泌 IL-10 的一条重要信号通路[10]。在 MΦ 中, ERK 途径不参与伤后 IL-10 mRNA 的表达。此外, 烧伤后早期 MΦ 产生 NO 显著增多, 伤后 MΦ 的 PTK 活化, 参与了 NO 的分子调控机制[4]。

3.1　烧伤后MΦ分泌TNF-α增多的细胞信号转导机制

MΦ TNF-α 的分泌在伤后 2~48 h 均显著升高, 其高峰在 12 h, 且 TNF-α mRNA 表达量明显强于对照组[1, 4, 6, 11]。为进一步探索其相应的调控机制, 比较 PKC 抑制剂 H-7、PTK 抑制剂 Genistein、钙调蛋白(CaM)拮抗剂 W-7 对烧伤 MΦ 分泌 TNF-α 的作用可见其抑制率分别为 89%、25%和 5%。表明在 MΦ 胞内信号传递系统与 TNF-α 分泌的关系中, DAG-PKC 途径起主要作用, PTK 途径仅起部分作用, 而 Ca^{2+}-CaM 途径作用不大[4, 6]。以选择伤后 12 h 为调控点, 采用特异性 NF-κB 阻断剂 PDTC 及 PKC 抑制剂 H-7, 发现 100 μmol/L PDTC 作用后, NF-κB 几乎被完全抑制, H-7 作用后活性轻度受抑制, 而 PDTC 及 H-7 对 TNF-α mRNA 有明显抑制作用, 以上提示 PKC-NF-κB 信号通路调控了烧伤后 TNF-α 的分泌与表达[11]。通过对比烧伤血浆及 CVF 烧伤血浆(去补体烧伤血浆)对正常 MΦ 分泌 TNF-α 的作用, 结果显示, CVF 烧伤血浆刺激正常 MΦ 分泌 TNF-α 仅为烧伤血浆的 57%, 表明烧伤后活化的补体可刺激 TNF-α 的分泌。进一步利用 Gs 刺激剂霍乱毒素(CT)可使烧伤血浆及 CVF 烧伤血浆刺激正常 MΦ 分泌 TNF 的能力分别下降为烧伤血浆的单独作用的 60%和 45%, 表明烧伤活化的补体对正常腹腔 MΦ 分泌 TNF-α 的调控至少部分是通过 Gs 蛋白途径发挥作用。

3.2　烧伤后MΦ分泌IL-10异常的细胞信号转导机制

烧伤 MΦ IL-10 mRNA 的表达在伤后 2~12 h 呈降低趋势, 12 h 为最低, 24 h 和 48 h 已恢复正常[10]。我们选用伤后 12 h 为调控点, 观察到 MEK1/2 特异性阻断剂 PD98059 组对 IL-10 mRNA 的表达无影响, 表明 MAPK 途径中的 ERK 途径不参与伤后 IL-10 mRNA 的表达, 可能通过 MAPK 的其它信号通路如 JNK 或/和 p38 等途径[10]。PDTC 主要作用于 NF-κB, 也部分通过 AP-1 发挥作用。PDTC 对烧伤后 12 h MΦ 受抑制的 IL-10 mRNA 的表达有一定的恢复作用, 表明 AP-1 参与了 IL-10 基因表达的调控[10]。

3.3　烧伤后MΦ分泌NO增多的细胞信号转导机制

烧伤后 2~48 h MΦ 产生 NO 显著增多, PTK 抑制剂 Genistein 可使烧伤后 24 h 巨噬细胞分泌的 NO 明显减少, 仅为对照组的 38.2%[13]。这表明伤后 MΦ PTK 活化, 参与了 NO 的分子调控机制。

对于伤后 MΦ, 通过对比烧伤血浆及 CVF 烧伤血浆(去补体烧伤血浆)对正常 MΦ 分泌 NO 的作用, 结果提示, CVF 烧伤血浆刺激正常 MΦ 分泌 NO 仅为烧伤血浆的 42%, 表明烧伤后活化的补体可刺激 NO 的分泌。进一步利用抑制型 G 蛋白(Gi)阻断剂百日咳毒素(PT)可使烧伤血浆及 CVF 烧伤血浆刺激正常 MΦ 分泌 NO 的能力分别下降为烧伤血浆单独作用的 56%和 32%, 表明烧伤活化的补体对正常腹腔 MΦ 分泌 NO 的调控至少部分是通过 Gi 蛋白途径发挥作用。

4　从细胞信号转导的角度调理烧伤后 MΦ 的炎症介质分泌功能

针对烧伤后 MΦ 跨膜及胞内信号转导持续激活的特征性分子调控机制, 结合以失控性炎症反应为特点的免疫学改变, 我们选择了三七总皂苷等免疫调理剂观察了它们对烧伤后 MΦ 分泌炎症介质功能的调理作用。

烧伤后 MΦ 分泌的 TNF-α 为重要的致炎因子代表, 而 IL-10 为一种强大的抗炎因子, 它们两者的关系体现了机体致炎与抗炎的相互平衡。我们的实验结果表明, 烧伤后 PKC-IκB-NF-κB 通路的激活介导了 MΦ 过量表达及分泌 TNF-α; 而 MΦ 的 MAPK 途径中非 ERK 通路介导了烧伤后 MΦ 表达和分泌 IL-10 减少。所以, TNF-α 及 IL-10 在烧伤后的反向改变共同导致了致炎与抗炎介质之间的失衡, 启动了失控性炎症反应。为此, 我们选择了不同的拮抗剂或中药进行了体外的干预实验, 观察它们对烧伤后 MΦ 分泌炎症介质功能的调理作用。二乙基二硫氨基甲酸钠(PDTC)为特异性 NF-κB 抑制剂, 而三七总皂苷为传统中药三七的提取物。实验提示, 0.2~0.8 mg/ml 三七总皂苷对烧伤后 MΦ NF-κB 活性呈剂量依赖性抑制, 在 1.6 mg/ml 却使 NF-κB 活性回升, TNF-α mRNA 表达也随之变化。另外, 1.6 mg/ml 三七总皂苷使烧伤后 TNF-α mRNA 的表达有所下降, 而 IL-10 mRNA 表达明显上升, 因此, 三七总皂苷使烧伤后 TNF-α 与 IL-10 之间的失衡趋于平衡; PDTC(100 μmol/L)也有与三七总皂苷类似的作用, 但对 IL-10 mRNA 表达的增加不如三七总皂苷明显[14]。可见, 三七总皂苷和 PDTC 有可能作为烧伤临床改善失控性炎症反应的候选免疫调理剂。

综上所述, 巨噬细胞在严重烧伤后失控性炎症反应的发生机制中起重要的始动作用。巨噬细胞跨膜及胞内信号转导系统在烧伤后早期处于持续激活状态是伤后巨噬细胞分泌炎症介质功能失常的分子基础。TNF-α 的持续大量分泌和 IL-10 的分泌减少或相对不足共同导致了致炎与抗炎介质之间的失衡, 启动了机体的失控性炎症反应。三七总皂苷和 PDTC 通过作用于 MΦ 细胞信号转导的关键环节可以改善烧伤后致炎与抗炎介质之间的失衡, 从而有利于防止严重烧伤后因过度炎症反应引起的 MODS。值得引起注意的是, PDTC 虽然可以抑制失控性炎症反应, 但是却造成烧伤感染大鼠体温下降, 而且并不改善动物的存活率[15], 提示烧伤感染时的失控性炎症反应的调控应与烧伤早期的应激反应区别对待。以上认识为烧伤临床寻找新的措施防治失控性炎症反应、减轻早期损害、提高治愈率提供了有价值的理论依据。

关键词: 烧伤; 巨噬细胞; 信号转导; 炎症介质; 免疫调理
中图法分类号: R644.02　　文献标识码: A

参考文献:

[1] 彭代智, 黄文华, 黎　鳌, 等. 巨噬细胞在严重烧伤后免疫功能紊乱的作用[J]. 中华外科杂志, 1994, 32(5): 310-313.
[2] 黎　鳌. 创伤后脏器功能不全[M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 1999. 259-323.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[3] Schwacha M G. Macrophages and post-burn immune dysfunction[J]. Burns, 2003, 29(1): 1—14.
[4] Peng D Z, Wang X M, Luo G X, Huang W H, Li A. Signal transduction of Macrophages (MΦ) after burns[J]. Eur J Haematol, 1996, 57(59 Suppl): 5.
[5] Peng D, McManus A T, Hu Y, *et al*. Complement activation stimulate GTPase activity and secretory function of macrophages following burns[J]. J Burn Care Rehabil, 2001, 22(2 suppl): 126.
[6] 汪新民, 方东海, 彭代智, 等. 烧伤小鼠腹腔巨噬细胞肌醇脂质信号系统变化的实验研究[J]. 中国烧伤创疡杂志, 2000, 12(1): 1—3.
[7] 胡远兵, 彭代智, 黄文华, 等. 严重烫伤后补体活化的动态变化及对巨噬细胞分泌功能的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2000, 16(4): 231—233.
[8] 王 勇, 彭代智, 黄文华, 等. 严重烫伤后巨噬细胞内 NF-κB 的变化及与 IκB-α 的关系[J]. 中华烧伤杂志, 2001, 17(1): 54.
[9] 王 勇, 彭代智, 黄文华. 在核转录因子 NF-κB、AP-1 的水平探讨严重烫伤后小鼠腹腔巨噬细胞分泌功能异常的机制及其调控[J]. 重庆医学, 2001, 30(3): 221.
[10] 王 勇, 彭代智, 黄文华, 等. 严重烫伤小鼠巨噬细胞内 IL-10-mRNA、AP-1 的变化及与 ERK 信号途径的关系[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(6): 702—704.
[11] 王 勇, 黄文华, 彭代智, 等. 严重烫伤后小鼠腹腔巨噬细胞 NF-κB、IκB-α、TNF-α 的变化及调控[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(10): 1153—1156.
[12] 胡远兵, 彭代智, 黄文华. 严重烫伤后巨噬细胞膜蛋白 GTP 酶活性变化及补体对其影响[J]. 白求恩军医学院学报, 2003, 1(3): 147—149.
[13] Peng D, Luo G, Huang W, *et al*. Role of macrophage derived nitric oxide (NO) in immune dysfunction after burns[J]. J Burn Care Rehabil, 2000, 21(1, Part 2): 197.
[14] 王 勇, 黄文华, 彭代智. 三七总皂苷对烫伤后核因子 κB 及肿瘤坏死因子的影响[J]. 医药导报, 2001, 20(5): 279—281.
[15] Peng D Z, McDermott D J, McManus A T. Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) has no effect on survival in burn wound sepsis[J]. Shock, 2002, 17(suppl): 35.

(编辑 刘洪娥)

综述

文章编号: 1000-5404(2004)23-2170-04

心肌细胞的机械感受与传导

Mechanosensitivity and mechanotransduction of cardiomyocytes

范鹏举[1] 综述, 黄晓元[2], 黄跃生[1] 审校 ([1] 第三军医大学西南医院全军烧伤研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400038; [2] 中南大学湘雅医院烧伤整形外科, 长沙 430008)

机械感受及传导是广泛存在的, 是细胞为适应外界环境变化而逐渐进化演变而成, 也是细胞难以理解的一个生理特性。从植物细胞到动物细胞, 几乎已知的所有细胞类型都存在某种机械感受传导能力。机械刺激, 既有外部的, 也有内部的。外界刺激可以是静态的、逐渐变大变小的、也可以是周期性的。外界机械刺激一般包括静水压、剪切力、扭转力、压力、牵张力、以及高频振动。内部主要由细胞骨架通过推拉胞膜和细胞内细胞器而产生。机械刺激作用于细胞后, 细胞膜或胞浆中的特定结构能够感受机械刺激并将刺激传入胞内, 引起细胞增生、分化、凋亡、迁移等多种生理功能的变化。心脏作为心血管系统的核心, 处于不断地舒缩过程中, 并时刻受到血流的冲击, 其机械感受及传导功能在心脏生理和病理过程中的作用理所当然的受到关注。Cooper 等人早在 1985 年就发现即使肾上腺素受体被阻断, 交感神经切除之后, 血流动力负荷仍能导致心肌肥厚。随后的研究进一步从细胞、分子水平阐述了心肌细胞机械感受传导的本质及其对心脏生理及病理过程的影响。现就心肌细胞机械感受及传导方面的研究进展做一综述。

1 心肌细胞的机械感受器

机械刺激是如何被细胞感受, 并将机械信号转化为生化信号或电信号呢? 一般认为当机械刺激作用于细胞时, 能导致有弹性的细胞膜膨胀或收缩以及膜曲率的变化, 引起胞膜形变, 细胞膜或胞浆特定的结构能够感受这种变化, 并将其信号传入胞内, 这种特定的结构就是所谓的细胞机械感受器。有关心肌细胞机械感受器的种类及结构功能看法较多, 下面就可能的机械感受器做一介绍。

1.1 整合素和细胞骨架

整合素是存在细胞膜上的一种细胞粘附分子, 由 16 种α 和 8 种β 亚单位组成, 两种亚单位可组成 20 余种跨膜分子。它由胞外区、跨膜区、胞内区 3 部分组成。胞外区与细胞外基质蛋白或其他细胞上相应受体结合; 胞浆区和细胞骨架或细胞内信号传导分子如α 肌动蛋白、粘附斑激酶(FAK)结合。由于整合素是细胞外基质和细胞骨架之间连接的桥梁, 因此它可能是膜上的机械感受器[1]。Keller 等[2] 通过构建转基因小鼠(这种小鼠心肌细胞$\alpha_{5}\beta_{1A}$整合素的β_{1A}亚单位的胞浆区及跨膜区为 IL-2

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054202); 国家杰出青年科学基金资助项目(30125040)
Supported by the National Key Basic Research and Development Plan of China ("973" Projects) (G1999054202); Supported by the National Science Fund for Young Distinguished Scholars (30125040)
作者简介: 范鹏举(1973—), 男, 河南省林州市人, 博士研究生, 主要从事创面修复, 瘢痕形成机制及严重烧伤后脏器功能方面的研究。电话: (0731)4327006
收稿日期: 2004-09-10; 修回日期: 2004-11-14

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net