

活性氧簇在肝脏移植缺血再灌注中的作用

刘现忠, 李相成

刘现忠, 李相成, 南京医科大学第一附属医院肝脏外科 江苏省南京市 210029

江苏省科委优秀青年基金资助项目, No. BQ98012

通讯作者: 李相成, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院肝脏外科, 中国活体肝移植研究所. Doclix@hotmai.com
电话: 025-83718836-6476

收稿日期: 2006-02-25 接受日期: 2006-04-30

摘要

肝移植缺血再灌注是一个复杂的、多因子参与的病理生理过程, 包括活性氧、细胞因子、枯否细胞和中性粒细胞的激活。氧化应激是许多肝病的主要发病机制, 在肝脏移植中是缺血再灌注引起肝损伤的主要原因。氧分子和活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的化学、生理功能, 以及促氧化物和抗氧化物之间的平衡对正常的线粒体和细胞功能是至关重要的。ROS的主要来源是肝脏中的线粒体和细胞色素P450酶, 以及库氏细胞和中性粒细胞, 其在缺血再灌注和缺血预处理过程中对损伤的决定性作用存在争议。

关键词: 活性氧簇; 氧化应激; 缺血再灌注; 肝脏移植

刘现忠, 李相成. 活性氧簇在肝脏移植缺血再灌注中的作用. 世界华人消化杂志 2006;14(18):1799-1804

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1799.asp>

0 引言

氧本身就是一个弱氧化剂, 细胞内存在氧和ROS感受器并有利用氧的系统, 而氧化酶使氧的利用更为有效。在细胞凋亡和程序性线粒体破坏中均可观察到线粒体嵴的断裂, 这可能与ROS的参与有关。氧化应激是ROS的产生和细胞抗氧化能力的失衡引起的^[1], 他将影响细胞大多数成分, 如脂质、蛋白质和DNA。ROS是外源性氧化剂或细胞内有氧代谢过程中产生的具有很高生物活性的含氧化合物的总称, 其中最常见的是超氧化物, 过氧化氢, 单线态氧, 氢氧根阴离子等^[2]。正常状态下体内存在抗氧化物质(氧化还原系统如还原型谷胱甘肽, 维生素, 白蛋白和球蛋白, 游离脂肪酸, 特别是不饱和脂肪

酸等)抵御过多的ROS。促氧化物质和抗氧化物质处于动态平衡状态, 使得促氧化物质处于某种稳定水平, 这对正常的细胞功能是重要的^[3]。ROS的产生和细胞抗氧化能力的失衡引起氧化应激, 这一现象和许多疾病联系密切, 包括心血管疾病, 糖尿病, 癌症, 神经变性疾病^[4-5]和几乎全部肝脏疾病^[6-9]。各种损伤的发展如肝脏缺血再灌注期间的损伤, 也与短时间暴露于高浓度的ROS下有关^[10-11]。已知过多促氧化剂造成氧化应激导致不良后果(衰老和死亡), 同样, 过多的抗氧化剂也会导致致命的后果^[12]。值得强调的是, ROS的相互转变(超氧化物通过歧化作用转变为过氧化氢, 再通过Fenton反应转变为氢离子)导致ROS中某些成分的氧化电位发生明显改变。这种相互转变也能导致ROS作用的改变: 从抗氧化转变为促氧化^[13]。

除产生细胞损伤外, ROS还作为细胞内的第二信使发挥作用, 在特定的细胞反应中细胞因子、激素、生长因子和其他可溶性介质(如细胞外ATP)均能触发ROS生成^[14]。

1 氧自由基及其衍生物

非吞噬细胞中线粒体是产生细胞内ROS的主要场所。氧化磷酸化期间, 正常细胞和组织产生低水平潜在毒性的氧代谢产物^[15]。正常水平的ROS参与细胞的许多生理功能, 包括基因表达、信号转导和抵御病原体的侵入。据估计, 在正常状态下, 高达1%的线粒体电子流主要作用是使氧分子单价还原形成超氧阴离子。这一过程通过酶(如NADP(H)氧化酶或黄嘌呤氧化酶)介导, 或通过非酶(如线粒体电子传递链的半辅酶Q)的氧化还原复合物介导完成。电子传递链的干扰能明显增加超氧化物的生成。在细胞内超氧化物歧化酶(SODs)的作用下超氧化物迅即被转化为H₂O₂和O₂。H₂O₂能进一步生成对细胞损害性更大的活性羟基分子。H₂O₂可被过氧化氢酶或谷胱甘肽过氧化物酶转化为水。在谷胱甘肽过氧化物酶反应中, 谷胱甘肽可被氧化为二硫化谷胱甘肽, 后者可在谷胱甘肽还原酶作用下消耗

■背景资料

肝移植技术已经取得了快速的发展, 目前的矛盾是供肝短缺和日益增多的需要肝移植的患者, 该项技术中关键的问题是如何防止肝脏的缺血再灌注损伤。目前已经提出了很多保护机制, 例如从实践上可分为3种: 术中干预、药物方法和基因治疗。其中药物方法中除了在器官保存液中加入抗氧化剂外, 还没有将抑制氧化应激的药物方法应用于临床的常规工作中, 部分原因是因为对肝移植中活性氧的作用机制了解不多。肝移植缺血再灌注是一个复杂的、多因子参与的病理生理过程, 包括活性氧、细胞因子、枯否细胞和中性粒细胞的激活。氧化应激是许多肝病的主要发病机制, 在肝脏移植中是缺血再灌注引起肝损伤的主要原因。氧分子和活性氧簇的化学、生理功能, 以及促氧化物和抗氧化物之间的平衡对线粒体和细胞功能至关重要。

■研究前沿

肝移植缺血再灌注损伤的机制相当复杂,近年来,活性氧簇在缺血再灌注损伤中的作用受到重视,其中氧化应激中蛋白酶(如黄嘌呤氧化酶和超氧化物歧化酶等)和线粒体功能的研究成为热点,尽管活性氧自由基在许多肝病中的作用被广为接受,但其确切的机制尚存在争议。自Xanthoudakis *et al* 于1992年发现Ref-1在细胞氧化还原中的重要作用以来,Ref-1成为研究细胞氧化还原状态的一个新的突破点,然而,氧化损伤中Ref-1基因表达诱导的分子机制和翻译后修饰在体外对Ref-1功能的影响目前还不清楚,氧化应激时Ref-1基因表达的始动因素以及其活化的信号途径了解不多。另外,ROS作为第二信使在细胞凋亡和恶性肿瘤发生、发展中起一定的作用。

NADPH还原为谷胱甘肽。

2 氧化应激反应

ROS存在于细胞和组织中的量很微弱,但可测得,其大小取决于ROS的产生和不同抗氧化酶及复合物清除ROS的比例。氧化应激时,多种蛋白的功能发生改变^[16-18],特别是作为ROS直接作用位点的氨基酸(如色氨酸,酪氨酸,组氨酸和半胱氨酸)改变引起的蛋白质修饰^[19]。ROS介导的蛋白质修饰可影响蛋白质的结构,功能及其稳定性。已知,ROS能影响细胞信号传导机制并最终影响细胞基因表达^[20]。越来越多的研究证明,哺乳动物细胞可以通过激活氧化还原敏感性转录因子(如Egr-1, NF- κ B, AP-1和G蛋白)和通过激活细胞激酶(如细胞分裂素活化蛋白激酶(MAPK)家族)来调整蛋白质表达模式以适应氧化应激^[21]。这种氧化依赖的细胞信号途径的改变常会导致肝细胞的凋亡。目前,可检测到对H₂O₂和其他ROS特异的多肽感受器,但对生物大分子调节ROS诱导的细胞效应的早期作用仍知之甚少。

氧化应激可能引起敏感性蛋白的可逆或不可逆的改变。可逆的改变常发生在半胱氨酸残基。ROS诱导的不可逆性改变,如酪氨酸丢失,蛋白质铰链或赖氨酸和精氨酸羧基化,将引起蛋白质功能的永久性丧失,导致受损蛋白的降解或过多聚集形成细胞质内含物。

2.1 肝细胞内氧化还原敏感性作用点的重要作用 1992年, Xanthoudakis *et al*^[22]从Hela细胞中纯化得到转录因子AP-1的胞内还原因子,命名为氧化还原因子-1(redox factor-1, Ref-1),并克隆得到其全长cDNA,测序结果表明Ref-1其实就是1991年Robson和Hickson克隆的人无嘌呤/嘧啶核酸内切酶1(Ape1)。由此拉开了这个具有多功能蛋白在细胞氧化调控中所起作用的序幕。作为DNA无嘌呤/嘧啶核酸位点(DNA氧化诱导损伤引起)碱基切除修复的主要参与者和许多重要的转录因子(如NF- κ B, AP-1, HIF-1 α 和Pax蛋白)活性的氧化还原调节剂^[23-25], Ref-1蛋白在ROS诱导的细胞效应中起重要作用。氧化应激状态下Ref-1不只是作为ROS清除剂来影响细胞功能^[26]。Ref-1包含2个不同的功能域。氨基末端功能域含有对氧化还原活性必要的核定位序列,而核酸内切酶活性的控制点位于羧基末端功能域。Ref-1可在翻译水平和翻译后水平被调节。关于翻译水平的调节,ROS对Ref-1的诱导已有较多的研究。目前的研究表明,氧化因子(如H₂O₂)

和ROS产生的损伤促进了Ref-1 mRNA的迅速诱导表达,这与其核酸内切酶和氧化还原活性的增加有关。目前尚不知道氧化应激时Ref-1基因表达的始动因素以及其活化的信号途径^[27]。由于Ref-1的表达是氧化应激的分子标志,所以,研究Ref-1在ROS诱导的细胞反应中作用的信号途径有重要意义。翻译后Ref-1活性的调节似乎存在两种机制,即亚细胞定位和磷酸化程度。一方面,不同细胞中的Ref-1在ROS作用下由细胞质向核移位^[28];另一方面,至少在体外,磷酸化和乙酰化似乎在决定蛋白质功能方面有重要作用。然而,氧化损伤中Ref-1基因表达诱导的分子机制和翻译后修饰在体外对Ref-1功能的影响都还不清楚。最近有研究称, Akt (PKB)抗氧化,抗凋亡的机制是: Akt使Rac-1磷酸化而失活,并减少在氧合肝细胞中Rac-1诱导的ROS产物,抑制低氧/再氧合诱导的细胞凋亡^[29-30]。研究Ref-1水平与肝脏氧化应激病理之间的联系,不仅对于了解Ref-1在这些病理起始和发展中的作用机制,而且对寻找诊断标志和治疗方法都是至关重要的。

2.2 线粒体膜通透性转运孔和ROS在细胞凋亡和线粒体凋亡中的作用 线粒体在细胞凋亡中起重要作用,各种因素诱导的细胞凋亡均出现线粒体功能紊乱,尤其是线粒体跨膜电位($\Delta\Psi$ m)的破坏。目前已清楚,造成 $\Delta\Psi$ m下降的原因是线粒体膜通透转运孔(mitochondrial permeability transition, MPT)的开放。MPT位于线粒体内、外膜之间,由一组蛋白复合体构成。许多因素可影响MPT的开关,其中,线粒体内膜的腺嘌呤核苷酸转位蛋白(ANT)起重要作用。ANT构象的改变影响MPT的开关:当相邻的巯基氧化为二硫键或类似于二硫键的交联复合物时, MPT开放,反之, MPT关闭^[31]。因此MPT的开放及 $\Delta\Psi$ m的破坏与细胞的氧化状态,如巯基氧化、细胞GSH减少及ROS的堆积密切相关。关于ROS诱导MPT开放作用的研究有对立之处。已知在离体线粒体,即使在很低的氧分压下钙离子也可诱导MPT开放^[32-33]。另一方面,在大鼠心肌细胞中ROS可原位诱导MPT开放^[34]。很可能是当位于其他诱导物上游时,ROS调节基序被忽略,或者是存在诱导途径的重叠,当一种途径缺失时不排除其他诱导途径。目前,认为MPT在许多情况下是肝细胞凋亡级联反应中不可缺少的要素^[35-38]。MPT诱导最可能的危害是线粒体ROS过度生成,称之为ROS诱导的ROS释放^[20],他是一种线粒体的ROS级联放大反应,机制仍不清楚。因此,ROS既是

促发和加速MPT开放的重要因素, 又是MPT开放的产物, 这种正反馈机制使MPT开放具有自我放大效应和“全”或“无”的特点. 线粒体大的通道和MPT诱导的同源性提示: 大通道的开放(可能由于过多的ROS产生)是程序性线粒体死亡的一个信号^[39-40], 这将为解决线粒体及细胞溶解这一问题提供理论基础. 这一观念被Skulachev进一步发展为所谓的线粒体凋亡, Zorov *et al*^[34]证明了线粒体凋亡概念的正确性. 作为生命系统中结构组织死亡级联反应的起始相, 这一级联反应从线粒体凋亡, 细胞凋亡到机体衰亡(phenoptosis), 贯穿有机体死亡全过程^[41]. 机体衰亡以及ROS在机体衰亡中的作用有待进一步证实. 另外, ROS在凋亡中的作用和凋亡调控蛋白Bcl-2有关^[42]. Bcl-2基因所编码的蛋白质属于胞内膜整合蛋白, 他对大多数因素诱导的细胞凋亡具有负性调节作用. 近来在对Bcl-2作用机制研究中发现Bcl-2抑制细胞凋亡作用可能涉及Bcl-2对凋亡过程中ROS产生的影响^[43-44]. Hochman *et al*^[45]认为Bcl-2蛋白是一种ROS清除剂, 能有效清除超氧阴离子等氧自由基, 抑制过氧化物产生及ROS对细胞的损伤. 有研究称Bcl-2并不能降低氧化应激引起的ROS产生, 但能阻止线粒体 $\Delta\Psi_m$ 的下降^[46]. 另外, 在酵母和植物的细胞凋亡中也涉及ROS的参与, 提示氧化还原敏感性凋亡信号通路可能并不依赖于Bcl-2^[44]. 总之, Bcl-2可能并不能抑制凋亡诱导因子引起的细胞内初次ROS的产生, 但Bcl-2能够阻断第2次大量ROS的产生(主要是由线粒体功能改变引起的ROS产生).

3 缺血, 再氧合和缺血预处理

肝脏可发生3种缺血再灌注的损伤: 分别为冷、热、复热3型, 冷缺血几乎只发生在肝移植的手术中, 该技术中有意的降低肝移植物的代谢, 从而延长器官存活时间^[47-48]. 热缺血主要发生于肝移植、肝损伤、休克、创伤及肝手术. 复热型缺血主要发生在肝移植的操作过程或是在将移植植物移植到受体的过程中. 冷缺血的损伤主要发生于窦状上皮细胞^[48], 窦状上皮细胞分离, 失去细胞质变成圆形, 脱离细胞外基质和细胞骨架而进入窦腔中. 内皮细胞壁的破坏会导致白细胞和血小板的黏附, 从而导致微循环障碍^[49-51]. 同冷缺血相比, 热缺血的耐受性更差, 很快导致细胞的死亡. 再灌注时, 库氏细胞被激活, 同时再灌注早期因子与相应受体结合和氧自由基的

释放启动凋亡导致肝细胞的死亡^[50]. 再灌注后, 白细胞快速地与裸露的窦细胞相结合导致损伤. 激活的库氏细胞释放的TNF- α 和IL-1, 导致了CD11B在白细胞的表达上调并聚集这些细胞到窦细胞, 损伤的机制是活性氧的释放. 复热型对于肝结构的完整性和这种类型的损伤机制还不清楚, 可能是冷和热损伤的合并.

ROS产生于缺血组织再灌注后早期, 引起的氧化应激是细胞损伤的主要因素. 缺血期, 黄嘌呤脱氢酶转变成黄嘌呤氧化酶. 再灌注时, 黄嘌呤氧化酶与分子氧反应产生ROS. 因此, 缺血再灌注期间主要的氧化爆发发生在恢复氧供后. 在肝细胞中, 许多炎症介质如TNF- α , IL-1或干扰素可以导致活性氧自由基的合成, 库氏细胞表面的Toll-like受体(TLR)可能触发缺血再灌注损伤前期炎症反应^[52], 提示阻断TLR下游信号通路是有效防止移植肝缺血再灌注损伤的一种方法. 尽管活性氧自由基在许多肝病中的作用被广为接受, 但其确切的机制尚存在争议. 在肝细胞中, 活性氧被认为参与了肝细胞和内皮细胞的死亡, 一个原因是氧化应激导致了线粒体膜的通透性的提高, 而这是一个细胞死亡前的重要事件^[24], 另一个潜在的靶位可能是半胱天冬酶(caspase), 半胱天冬酶可被低剂量的氢氧自由基激活, 然而大剂量的氢氧自由基反而会抑制他, 因此活性氧是促进还是抑制细胞凋亡依赖于氧化应激发生的程度^[53]. 但是, 缺血再灌注中细胞反应的分子机制尚不完全清楚. 肝中的Ref-1和NF- κ B蛋白可能起主要作用, 在小鼠模型中, 通过腺病毒载体介导的Ref-1高表达可抑制再灌注氧化应激^[54]. 在氧含量正常的情况下线粒体能量供应是由呼吸提供的, 然而低氧情况下, 线粒体通过ATP酶反应的逆反应仍保持能量供应^[55]. 这就会使蓄积的ATP在需氧期造成浪费, 也造成无氧期的糖酵解. 很明显, 当线粒体膜电位这最后一道防线瓦解后细胞死亡在所难免. 在心肌细胞, 星形胶质细胞中, 用可渗透入线粒体的荧光染料染色并用中等强度的激发光照射后, 可观察到线粒体内光促作用下的ROS的产生, 表现为这部分线粒体膜电位的长时间的波动^[56], 但最后细胞也会死亡. 在常态下有人观察到线粒体膜电位类似的波动^[57]. 毫无疑问, 这种线粒体膜电位的波动作为一种病理状态对细胞将产生致命影响, 但这种波动可被细胞ATP缓冲. 低氧本身对细胞极端危险, 在神经组织中, 轻微的低氧很快就引起大量谷氨酸释放^[58], 由于酪氨酸甲酯的

■创新盘点

缺血再灌注损伤的报道已有许多, 以往多侧重于细胞因子和转录因子方面以及组织结构形态学改变的阐述, 其中活性氧簇作用的综述文献目前很少. 本文首次结合肝脏移植, 综述再灌注损伤中活性氧簇的作用机制.

■应用要点

许多临床疾病中存在着缺血再灌注损伤,特别是在心肌缺血、脑缺血和器官移植中,低氧和再氧合诱发的损伤更为明显。随着器官移植的迅速发展,理解再灌注损伤中活性氧簇的作用,将有助于指导临床肝移植中缺血再灌注损伤的预防和术后抗损伤药物的应用,减少术后并发症,提高移植存活率,并可促进活体肝移植和边缘性供肝肝移植的开展,缓解临床移植供肝短缺。全面理解ROS在缺血再灌注损伤中的作用,不仅对于器官移植有重要意义,而且对许多临床疾病发病机制的阐明和临床治疗的改进起到促进作用。

作用导致神经元不可逆死亡。在其他组织如心脏和肾脏,低氧本身并不引起细胞溶解,而是在组织再氧合时造成ROS爆发性产生^[59]。可见,由低氧到正常氧供这一过程比低氧本身对细胞会造成更大的损伤。

大体而言,细胞可通过短期的低氧然后短期的再氧合,也就是所谓的缺血预处理,来应对这种由低氧到再氧合的变化。尽管肝缺血预处理的益处已经在先期的临床研究被阐述,但其分子机制仍不清楚。许多的介质如腺苷、NO、氧应激、某些心脏抑制因子、TNF- α 、血红素加氧酶等被认为在保护途径中起关键作用^[52]。尽管短周期的缺血可启动保护机制,也可能产生损伤分子(如氧化应激和CO),这种损伤的作用可能会超过他的保护作用,从这一点上讲,非特异性的缺血预处理可能不是最有效的治疗方法,进一步的研究应着重于缺血预处理肝内机制的研究,发现能够阻止缺血预处理损伤作用的药物,这些药物可以特异诱导保护作用,同时可抵消短期的缺血预处理的副作用。肝移植是目前终末期肝病的有效治疗方法,移植肝缺血再灌注损伤是原发性移植无功能或功能低下的主要原因。另外,老年供肝和伴有中到重度肝硬化的供肝更易受到缺血再灌注的损伤。因此,阐明移植后早期缺血再灌注损伤的分子机制,将有利于寻找保护移植物的方法,改善移植效果,并可拓展供体器官的选择标准。

总之,由于氧化应激是多种肝脏疾病的共同发病机制,因此,在氧化损伤早期鉴别分子结构的改变将有助于监测疾病的进展程度并可早期识别。为定位这一重要的作用位点,就要辨别那些表达和功能被氧化应激直接改变的基因。基因表达的改变可以通过两种方法检查。一种方法是研究已知的氧化应激作用的单个候选基因的表达,如c-jun^[29]和NF- κ B^[60]。但是,已知氧化应激的生物反应是通过复杂的基因排列的改变介导的^[61],因此,研究单个候选基因不足以阐明基于氧化应激的肝病复杂机制。另一种方法包括DNA微阵列、差异显示和蛋白质组学,能够同时检测许多基因产物的改变。目前,对肝细胞氧化应激时参与的蛋白质类了解不多,因为以往的大部分研究多是在RNA水平。蛋白质组学的出现,使得研究各种细胞单个蛋白的基因表达成为可能^[62]。应用蛋白质组学技术,最近研究了人类上皮细胞氧化应激早期分子作用位点^[63]。这一研究表明,蛋白质组学方法有望检出氧化应激早期

分子标记物。氧化还原基因治疗已证明能够解决肝移植后与缺血再灌注期间氧化损伤的有关问题^[64],而蛋白质组学技术正好满足了这一治疗方法对于最佳作用位点识别的需求。

4 参考文献

- 1 Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 2006; 43: S63-S74
- 2 Nohl H, Jordan W. The metabolic fate of mitochondrial hydrogen peroxide. *Eur J Biochem* 1980; 111: 203-210
- 3 Wheeler MD. Endotoxin and Kupffer cell activation in alcoholic liver disease. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 300-306
- 4 Bray TM. Antioxidants and oxidative stress in health and disease: introduction. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 195
- 5 Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom Rev* 2005; 24: 55-99
- 6 Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 1-10
- 7 Pinzani M, Rombouts K. Liver fibrosis: from the bench to clinical targets. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 231-242
- 8 Kang KJ. Mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury and protection against reperfusion injury. *Transplant Proc* 2002; 34: 2659-2661
- 9 Siegmund SV, Dooley S, Brenner DA. Molecular mechanisms of alcohol-induced hepatic fibrosis. *Dig Dis* 2005; 23: 264-274
- 10 Berrevoet F, Schafer T, Vollmar B, Menger MD. Ischemic preconditioning: enough evidence to support clinical application in liver surgery and transplantation? *Acta Chir Belg* 2003; 103: 485-489
- 11 McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163
- 12 MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 23-33
- 13 Zorov DB, Krasnikov BF, Kuzminova AE, Vysokikh MYu, Zorova LD. Mitochondria revisited. Alternative functions of mitochondria. *Biosci Rep* 1997; 17: 507-520
- 14 Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 1997; 11: 118-124
- 15 Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene* 2003; 22: 5734-5754
- 16 Staal FJ, Anderson MT, Staal GE, Herzenberg LA, Gitler C, Herzenberg LA. Redox regulation of signal transduction: tyrosine phosphorylation and calcium influx. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3619-3622
- 17 Sun X, Majumder P, Shioya H, Wu F, Kumar S, Weichselbaum R, Kharbanda S, Kufe D. Activation of the cytoplasmic c-Abl tyrosine kinase by reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2000; 275: 17237-17240
- 18 Nakamura K, Hori T, Sato N, Sugie K, Kawakami T, Yodoi J. Redox regulation of a src family protein

- tyrosine kinase p56lck in T cells. *Oncogene* 1993; 8: 3133-3139
- 19 Cairo G, Recalcati S, Pietrangelo A, Minotti G. The iron regulatory proteins: targets and modulators of free radical reactions and oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 1237-1243
 - 20 Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G583-G589
 - 21 Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47-95
 - 22 Xanthoudakis S, Curran T. Identification and characterization of Ref-1, a nuclear protein that facilitates AP-1 DNA-binding activity. *EMBO J* 1992; 11: 653-665
 - 23 Hu Y, Jin X, Snow ET. Effect of arsenic on transcription factor AP-1 and NF-kappaB DNA binding activity and related gene expression. *Toxicol Lett* 2002; 133: 33-45
 - 24 Nakamura H, Nakamura K, Yodoi J. Redox regulation of cellular activation. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 351-369
 - 25 Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40
 - 26 Tell G, Damante G, Caldwell D, Kelley MR. The intracellular localization of APE1/Ref-1: more than a passive phenomenon? *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 367-384
 - 27 Liu H, Colavitti R, Rovira II, Finkel T. Redox-dependent transcriptional regulation. *Circ Res* 2005; 97: 967-974
 - 28 Tell G, Zecca A, Pellizzari L, Spessotto P, Colombatti A, Kelley MR, Damante G, Pucillo C. An 'environment to nucleus' signaling system operates in B lymphocytes: redox status modulates BSAP/Pax-5 activation through Ref-1 nuclear translocation. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: 1099-1105
 - 29 Czaja MJ, Liu H, Wang Y. Oxidant-induced hepatocyte injury from menadione is regulated by ERK and AP-1 signaling. *Hepatology* 2003; 37: 1405-1413
 - 30 Matsuzawa A, Ichijo H. Stress-responsive protein kinases in redox-regulated apoptosis signaling. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 472-481
 - 31 Marchetti P, Decaudin D, Macho A, Zamzami N, Hirsch T, Susin SA, Kroemer G. Redox regulation of apoptosis: impact of thiol oxidation status on mitochondrial function. *Eur J Immunol* 1997; 27: 289-296
 - 32 Kuzminova AE, Zhuravlyova AV, Vyssokikh MYu, Zorova LD, Krasnikov BF, Zorov DB. The permeability transition pore induced under anaerobic conditions in mitochondria energized with ATP. *FEBS Lett* 1998; 434: 313-316
 - 33 Krasnikov BF, Kuzminova AE, Zorov DB. The Ca²⁺-induced pore opening in mitochondria energized by succinate-ferricyanide electron transport. *FEBS Lett* 1997; 419: 137-140
 - 34 Zorov DB, Koblinsky E, Juhaszova M, Sollott SJ. Examining intracellular organelle function using fluorescent probes: from animalcules to quantum dots. *Circ Res* 2004; 95: 239-252
 - 35 Pouliquen D, Bellot G, Guihard G, Fichet P, Meflah K, Vallette FM. Mitochondrial membrane permeabilization produced by PTP, Bax and apoptosis: a 1H-NMR relaxation study. *Cell Death Differ* 2006; 13: 301-310
 - 36 Armstrong JS. Mitochondrial membrane permeabilization: the sine qua non for cell death. *Bioessays* 2006; 28: 253-260
 - 37 Kim JS, He L, Qian T, Lemasters JJ. Role of the mitochondrial permeability transition in apoptotic and necrotic death after ischemia/reperfusion injury to hepatocytes. *Curr Mol Med* 2003; 3: 527-535
 - 38 Kim JS, He L, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 463-470
 - 39 Kinnally KW, Zorov D, Antonenko Y, Perini S. Calcium modulation of mitochondrial inner membrane channel activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 176: 1183-1188
 - 40 Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1047: 248-258
 - 41 Skulachev VP. Programmed death phenomena: from organelle to organism. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 214-237
 - 42 Ouyang YB, Giffard RG. Changes in astrocyte mitochondrial function with stress: effects of Bcl-2 family proteins. *Neurochem Int* 2004; 45: 371-379
 - 43 Takahashi A, Masuda A, Sun M, Centonze VE, Herman B. Oxidative stress-induced apoptosis is associated with alterations in mitochondrial caspase activity and Bcl-2-dependent alterations in mitochondrial pH (pHm). *Brain Res Bull* 2004; 62: 497-504
 - 44 Fleury C, Mignotte B, Vayssiere JL. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie* 2002; 84: 131-141
 - 45 Hochman A, Sternin H, Gorodin S, Korsmeyer S, Ziv I, Melamed E, Offen D. Enhanced oxidative stress and altered antioxidants in brains of Bcl-2-deficient mice. *J Neurochem* 1998; 71: 741-748
 - 46 Tang XQ, Feng JQ, Chen J, Chen PX, Zhi JL, Cui Y, Guo RX, Yu HM. Protection of oxidative preconditioning against apoptosis induced by H₂O₂ in PC12 cells: mechanisms via MMP, ROS, and Bcl-2. *Brain Res* 2005; 1057: 57-64
 - 47 Casillas-Ramirez A, Ben Mosbah I, Franco-Gou R, Rimola A, Rosello-Catafau J, Peralta C. Ischemia-reperfusion syndrome associated with liver transplantation: an update. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 306-313
 - 48 Huet PM, Nagaoka MR, Desbiens G, Tarrab E, Brault A, Bralet MP, Bilodeau M. Sinusoidal endothelial cell and hepatocyte death following cold ischemia-warm reperfusion of the rat liver. *Hepatology* 2004; 39: 1110-1119
 - 49 Quintana AB, Guibert EE, Rodriguez JV. Effect of cold preservation/reperfusion on glycogen content of liver. Concise review. *Ann Hepatol* 2005; 4: 25-31
 - 50 Ohkohchi N, Shibuya H, Tsukamoto S, Sakurada M, Oikawa K, Terashima T, Satomi S. Kupffer's cells modulate neutrophil activity by superoxide anion and tumor necrosis factor-delta in reperfusion injury of liver transplantation-mechanisms of radical generation and reperfusion injury after cold ischemia. *Transplant Proc* 1999; 31: 1055-1058
 - 51 Colina F. The role of histopathology in hepatic transplantation. *Semin Diagn Pathol* 1992; 9: 200-209
 - 52 Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Ischemia

■名词解释

1 活性氧簇: 是外源性氧化剂或细胞内有氧代谢过程中产生的具有很高生物活性的含氧化合物的总称, 包括超氧阴离子(O²⁻)、过氧化氢(H₂O₂)和羟自由基(HO•)等。

2 氧化还原因子-1: 37 kDa的蛋白质, 是DNA损伤碱基切除修复途径中重要的核酸内切酶和细胞内氧化还原调节的关键点, 此外还可激活许多转录因子、诱导药物肝内代谢。

3 Toll-like受体: TLRs是果蝇属Toll蛋白的哺乳动物同系物, 在先天性宿主防御反应和炎症反应种起重要作用。TLRs是IL-1超家族成员, 在结构上, 以富含亮氨酸胞外结构域和Toll/IL-1R(TIR)胞内结构域为特征, 目前已发现11种TLRs。

■同行评价

组织再灌注损伤的机制研究是个老课题, 结合肝移植的再灌注损伤具有一定的临床意义; 再灌注损伤的分子机制很复杂, 活性氧簇的研究是个较新的切入点。

- and reperfusion injury in liver transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37: 1653-1656
- 53 Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths? *Hepatology* 2006; 43: S31-S44
- 54 Ozaki M, Suzuki S, Irani K. Redox factor-1/APE suppresses oxidative stress by inhibiting the rac1 GTPase. *FASEB J* 2002; 16: 889-890
- 55 Di Lisa F, Blank PS, Colonna R, Gambassi G, Silverman HS, Stern MD, Hansford RG. Mitochondrial membrane potential in single living adult rat cardiac myocytes exposed to anoxia or metabolic inhibition. *J Physiol* 1995; 486 (Pt 1): 1-13
- 56 Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 1001-1014
- 57 Aon MA, Cortassa S, Marban E, O'Rourke B. Synchronized whole cell oscillations in mitochondrial metabolism triggered by a local release of reactive oxygen species in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2003; 278: 44735-44744
- 58 Isaev NK, Andreeva NA, Stel'mashuk EV, Zorov DB. Role of mitochondria in the mechanisms of glutamate toxicity. *Biochemistry (Mosc)* 2005; 70: 611-618
- 59 Darley-USmar VM, Stone D, Smith D, Martin JF. Mitochondria, oxygen and reperfusion damage. *Ann Med* 1991; 23: 583-588
- 60 Tacchini L, Radice L, Pogliaghi G, Bernelli-Zazzera A. Differential activation of heat shock and nuclear factor kappaB transcription factors in postischemic reperfused rat liver. *Hepatology* 1997; 26: 186-191
- 61 Morgan KT, Ni H, Brown HR, Yoon L, Qualls CW Jr, Crosby LM, Reynolds R, Gaskill B, Anderson SP, Kepler TB, Brainard T, Liv N, Easton M, Merrill C, Creech D, Sprenger D, Conner G, Johnson PR, Fox T, Sartor M, Richard E, Kuruvilla S, Casey W, Benavides G. Application of cDNA microarray technology to in vitro toxicology and the selection of genes for a real-time RT-PCR-based screen for oxidative stress in Hep-G2 cells. *Toxicol Pathol* 2002; 30: 435-451
- 62 Zhu H, Bilgin M, Snyder M. Proteomics. *Annu Rev Biochem* 2003; 72: 783-812
- 63 Paron I, D'Elia A, D'Ambrosio C, Scaloni A, D'Aurizio F, Prescott A, Damante G, Tell G. A proteomic approach to identify early molecular targets of oxidative stress in human epithelial lens cells. *Biochem J* 2004; 378: 929-937
- 64 Wheeler MD, Kono H, Yin M, Rusyn I, Froh M, Connor HD, Mason RP, Samulski RJ, Thurman RG. Delivery of the Cu/Zn-superoxide dismutase gene with adenovirus reduces early alcohol-induced liver injury in rats. *Gastroenterology* 2001; 120: 1241-1250

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

第八届中西医结合实验医学研讨会

本刊讯 第八届中西医结合实验医学研讨会将于2006-10在南京举行, 现将征文通知公布如下:

1 截稿日期

2006-08-31截稿

2 联系方式

南京中山东路305号南京军区总医院 齐名; 邮编: 210002; 电话: 025-52926620.