

内质网应激与肝细胞凋亡

吴涛, 季光, 郑培永, 柳涛

吴涛, 季光, 郑培永, 柳涛, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科 上海中医药大学脾胃病研究所 上海市 200032
国家自然科学基金资助项目, No. 30572380
通讯作者: 季光, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科, 上海中医药大学脾胃病研究所.
jiliver@vip.sina.com
电话: 021-64286261 传真: 021-64286261
收稿日期: 2007-06-16 修回日期: 2007-08-10

Endoplasmic reticulum stress and hepatic apoptosis

Tao Wu, Guang Ji, Pei-Yong Zheng, Tao Liu

Tao Wu, Guang Ji, Pei-Yong Zheng, Tao Liu, Department of Gastroenterology, Research Institute of Spleen and Stomach Diseases, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30572380

Correspondence to: Guang Ji, Department of Gastroenterology, Research Institute of Spleen and Stomach Diseases, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. jiliver@vip.sina.com

Received: 2007-06-16 Revised: 2007-08-10

Abstract

Endoplasmic reticulum (ER) is an important organelle of eukaryotic cells. There are many reasons for the accumulation of misfolded and unfolded proteins in the ER, which affect the balance of Ca^{2+} . Such phenomena are called ERS. Apoptosis, programmed cell death, is an active method of cell death controlled by the extracellular microenvironment and intracellular gene regulation. It is an important mechanism by which the body removes no-longer-needed cells and heterocysts, thus ensuring normal development and maintaining the normal physiological processes of the organism. Hepatic apoptosis can cause liver injury and disease, and is considered to be mainly mediated by two signaling pathways: the death acceptor and the mitochondrial pathways of cell death. However, recent research has demonstrated that ERS also mediates hepatic apoptosis. The mechanism of hepatic apoptosis mediated by ERS is discussed.

Key Words: Endoplasmic reticulum stress; Hepatic

apoptosis; Unfolded protein response

Wu T, Ji G, Zheng PY, Liu T. Endoplasmic reticulum stress and hepatic apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(23): 2507-2515

摘要

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是一种重要的真核细胞器, 由于各种原因引起的内质网中出现错误折叠与未折叠蛋白在腔内聚集以及 Ca^{2+} 平衡紊乱的状态, 称为内质网应激(ER stress, ERS). 细胞凋亡(apoptosis), 又称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD), 是受细胞外微环境和细胞内基因调控的一种细胞主动性死亡方式, 他是机体用来去除衰老、有害、无用及异型细胞的一种重要机制, 是确保机体正常发育、维持机体正常生理过程所必须的. 肝细胞凋亡是造成肝脏损伤和肝脏疾病最基本的中心环节. 既往研究认为肝细胞凋亡主要通过两条信号通路介导, 即死亡受体通路和线粒体依赖性的细胞凋亡通路. 但近来发现ERS亦介导肝细胞发生凋亡, 本文主要讨论ERS途径所致肝细胞凋亡的机制.

关键词: 内质网应激; 肝细胞凋亡; 未折叠蛋白反应

吴涛, 季光, 郑培永, 柳涛. 内质网应激与肝细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2007;15(23):2507-2515

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2507.asp>

0 引言

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是一种重要的真核细胞器, 由于各种原因引起的ER中出现错误折叠与未折叠蛋白在腔内聚集以及 Ca^{2+} 平衡紊乱的状态, 称为ER应激(ER Stress, ERS). ERS可由多种原因引起, 这些刺激引起从ER到胞质和胞核的信号传导, 最终导致对细胞存活的适应或凋亡. 越来越多的研究证实, 许多疾病的发病机制都与ERS引起的凋亡有关, 例如糖尿病、阿尔茨海默病、帕金森氏病等神经变性疾病、病毒性疾病、癌症、外伤性脑损伤、扑热息痛引起的肾小管损伤等^[1-2]. 在肝脏疾病方面,

■背景资料

肝细胞凋亡是造成肝脏损伤和肝脏疾病最基本的中心环节. 既往研究认为肝细胞凋亡主要通过死亡受体通路和线粒体依赖性的细胞凋亡通路介导. 但近来发现ERS亦介导肝细胞发生凋亡. 越来越多的研究证实, 许多疾病的发病机制都与ERS引起的凋亡有关, 因此了解ERS引起的肝细胞凋亡至关重要.

■ 研发前沿

目前对于ERS介导肝细胞凋亡的研究热点主要集中在ERS的跨膜蛋白、反应蛋白、伴侣蛋白和肝细胞凋亡相关调控基因及诱导分子方面,研究重点在于ERS具体是如何介导肝细胞凋亡,这也是亟待进一步研究和揭示的问题。

非酒精性脂肪肝、胆汁淤积和酒精性肝病,乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒感染等的发病机制均与ERS引起的损伤有关^[3-6]。因此了解ERS引起的肝细胞凋亡至关重要,可为临床上防治各种肝脏疾病提供新的思路和方法。本文就从ERS和肝细胞凋亡两大方面对ERS介导肝细胞凋亡作一综述。

1 ERS的诱发因素

ER含有细胞色素P450(cytochrome P450)、3-羟-3-甲基辅酶A(HMGCoA)还原酶等多种酶系统,在维持细胞内Ca²⁺内环境稳定及膜蛋白合成、修饰和折叠等方面发挥关键性作用,是细胞合成、加工蛋白质和贮存Ca²⁺的主要场所,同时也是细胞内其他膜性细胞器的重要来源,在内膜系统中占有中心地位,对应激极为敏感^[7-9]。细胞应激涉及线粒体、ER、胞核等细胞器的应激,他们既相对独立,又相互作用。现在备受关注的ERS是线粒体应激、胞核应激的共同通路,ERS反应是应激时发生在细胞中的最初反应^[2]。ERS对决定应激细胞的结局如抵抗、适应、损伤或凋亡有重要作用,近年来有关其信号通路与应用的研究非常活跃^[10-11]。

凡影响ER功能的因素都能够引起ERS,包括有下列各种因素:(1)细胞营养物质缺乏,包括葡萄糖饥饿和氨基酸饥饿;(2)影响蛋白质翻译后修饰的因素,如还原物质二巯基苏糖醇(dithiothreitol, DTT)、β-巯基乙醇(β-mercaptoethanol)、同型半胱氨酸(homocystine)、糖基化抑制剂衣霉素(tunicamycin)、葡萄糖胺(glucosamine)、2-脱氧葡萄糖(2-deoxyglucose)等;(3)影响ER钙离子平衡的药物,如ERCa²⁺-ATP酶抑制剂毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)、钙离子载体(calcium ionophore)A23187、钙离子螯合剂乙二醇四乙酸酯(ethylene glycol tetraacetate, EGTA)、抗生素罗奴霉素(lonomycin)、ERCa²⁺强烈释放剂等;(4)突变基因表达的结构异常蛋白在ER堆积;(5)其他一些有害因素如紫外线、缺氧、氧化应激、病毒、毒性物质(如重金属)等。上述因素作用的共同机制是引起ER摄取/释放Ca²⁺障碍或蛋白质加工/运输障碍^[12-13]。

2 ERS反应途径

迄今为止,对于ERS至少已发现了4种功能上相互独立的反应途径^[14-15]。

2.1 蛋白质生物合成异常 蛋白质的不正确折叠引发的ERS反应称未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),在哺乳动物细胞中由3种ER感应蛋白介导,即1型ER转膜蛋白激酶(type-1 ER transmembrane protein kinase, IRE1)、双链RNA依赖的蛋白激酶样ER激酶(PKR like ER kinase, PERK)和活化转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)3种跨膜蛋白质^[16]。UPR是指ERS时,从ER到细胞核的一系列信号传导通路,主要特征是以葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein78, GRP78)/免疫球蛋白结合蛋白(immunoglobulin binding protein, Bip)、钙网蛋白(calreticulin)及GRP170等为代表的ER伴侣蛋白表达水平的上调。真核细胞有3种不同的机制处理UPR:ER伴侣蛋白基因转录的上调;蛋白质翻译减少;非折叠蛋白由ER移入胞质并被降解。

2.2 基因活化编码 参与ER蛋白质的折叠、转运、分泌、降解的基因在ERS时诱导表达,其中包括ERS反应的标志性蛋白GRP78/Bip。GRP78/Bip是热休克蛋白家族热休克蛋白70(heat shock protein70, HSP70)的成员之一,主要参与ER中蛋白质的重新折叠和装配。

2.3 ER相关降解(ER-associated degradation, ERAD) ER中不能再折叠的错误折叠蛋白可以通过ER质量控制系统检测,从ER逆向转运至胞质,被26 S蛋白酶体降解。

2.4 细胞凋亡 当严重的或长时间的ERS损伤了ER的功能时,发生细胞凋亡,以去除受损伤的细胞。由ERS诱发的凋亡有3种途径:CHOP(CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白, CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein)/GADD153(growth arrest/DNA damage-inducible protein153)基因的激活转录;JNK(C-Jun氨基酸末端激酶, C-Jun N-terminal kinase)的激活通路;ER特有的Caspase-12的激活。CHOP/GADD153是转录因子家族C/EBP(CCAAT/enhancer binding protein, CCAAT/增强子结合蛋白)成员之一,在正常生理状态下基本检测不到,但在ERS时,被显著诱导表达,参与调节下游凋亡相关基因的表达。ER介导细胞凋亡至少包括2种机制,即UPR和Ca²⁺起始信号(calcium signaling)。2种机制之间存在串扰,如钙网蛋白是ER腔的主要钙离子结合伴侣蛋白,可调节Ca²⁺水平,他同时也是UPR诱导的糖蛋白结合伴侣蛋白,其过表达可导致对凋亡的敏感性增加^[17]。

在应激早期,ER合成蛋白能力短暂地减弱,

这有助于减少蛋白进入ER腔内而防止ER过度负荷; 随后, 编码ER蛋白翻译、折叠、输出、降解的基因被激活, 从而促进ER对蓄积在网腔内的错误折叠或未折叠蛋白质的处理, 而有利于维持细胞正常功能; 最后, 若ERS过度或过强则引起细胞凋亡或死亡等变化。因此, ERS既是细胞抵抗应激的生理反应, 又是应激造成细胞损伤的重要机制。一定程度的ERS免于损伤; 若应激过强, 保护机制不能与损伤相抗衡, 则诱导细胞发生凋亡^[11]。

3 ERS的跨膜蛋白、调控因子和伴侣蛋白

3.1 跨膜蛋白 正常情况下, 细胞ER膜上存在IRE1, PERK和ATF6 3种跨膜蛋白质, 他们的配体结合域位于ER腔面, 效应域位于ER胞质面^[18]。此3种感应蛋白在未发生应激时都以无活性的状态与ER分子伴侣GRP78/Bip结合^[19-20]。ERS时, 未折叠蛋白的积聚使GRP78/Bip与3种感应蛋白分离, 引起他们的激活。游离的IRE1, PERK分别通过各自细胞质内结构域的二聚化和自身磷酸化而受到激活; 解离后的ATF6则转入高尔基体被蛋白酶水解成活性转录因子, 继而诱导ERS下游信息的传递与相关基因的表达^[21]。

活化的IRE1仅能募集胞质接合蛋白TRAF-2, 通过激活胞内的JNK信号转导通路, 再作用于Procaspase-12, 促进其聚合和活化, 有研究表明ERS引起凋亡时胞质内的天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶-7(cysteine aspartyl protease-7, Caspase-7)转移致ER表面激活Caspase-12。活化的Caspase-12在无需细胞色素C参与的情况下激活Caspase-9和Caspase-3引起凋亡。PERK自身聚合、自我磷酸化激活, 将真核细胞翻译起始因子2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 α , eIF2 α)的Ser51磷酸化, 使之不能结合葡萄糖基转移酶(glucosyltransferase, GTP), 阻止了起始蛋氨酸-RNA与核糖体的结合, 无法进行翻译起始。这种保护性机制很快阻止了新生蛋白向ER腔的转运, 抑制了ER的负荷过重^[12]。另外, PERK活化后能选择性诱导CHOP表达, 同时胞内蛋白的整体合成下调, 不利于细胞存活。目前认为伴侣蛋白BIP的上升能够阻碍细胞发生凋亡, 但CHOP表达上调同时使细胞作好凋亡的准备, 当不利因素持续存在, ERS过于强烈时, 细胞就发生凋亡^[22-23]。活化的ATF6能够促进转录因子CHOP基因的表达。CHOP能够下调B细胞淋巴瘤/白血病-2蛋白(B-cell lymphoma/leukemia-2

protein, Bcl-2)的表达, CHOP表达升高是ERS的标志^[17]。

3.2 调控因子 正常情况下, ER内Ca²⁺浓度为0.1-1 mmol/L。一般情况下, ER的Ca²⁺浓度主要依靠3种受体通道调节: 向ER内吸收Ca²⁺的钙泵, 起释放Ca²⁺作用的莱恩素受体(ryanodine receptor, RyR)和三磷酸肌醇受体(IP3 receptor, IP3R)通道。ER腔内的Ca²⁺主要发挥2种作用: 一是释入胞质作为第二信使; 二是在ER腔内调节蛋白酶活性。由于调节Ca²⁺吸收和释放的膜蛋白来自ER腔, 因此大量Ca²⁺释入胞质会产生严重而广泛的影响, 如会破坏ER与高尔基体之间以及胞核与胞质之间的膜转运等。另一方面, 由于ER的功能是生成和加工分泌性蛋白质, 而这一功能又是依靠多种Ca²⁺依赖性蛋白酶的调节而实现的, 因此当这些蛋白酶由于Ca²⁺从ER腔大量释出而失活后会导致蛋白质未折叠加工或错误折叠并在ER腔内积聚, 最终导致对ER的刺激^[24-26]。Matsuzawa *et al*^[27-28]的研究则发现, 凋亡信号调节激酶1(apoptosis signature kinase1, ASK1)是氧化应激和ERS诱导细胞凋亡所必需的。

3.3 伴侣蛋白 ER腔内有大量可溶性的驻留的分子伴侣和折叠酶。其中GRP78/Bip, GRP94, HSP40分别属于经典的分子伴侣家族HSP70, HSP90和HSP40。GRP78协助新生蛋白质正确结构的折叠, ERS时其表达显著增加, Lee *et al*^[29]认为可以做为ERS的标志蛋白。GRP94是GRP家族的主要成员, 为UPR的标志性靶基因之一^[30]。此外还有肽-脯氨酰顺反异构酶(peptide prolylcis transisomerase, PPT)及ER所特有的: (1)凝集素分子伴侣: 钙联接蛋白(calnexin)和钙网蛋白; (2)蛋白二硫键异构酶(protein disulfide isomerase, PDI)^[31]。

3.4 Caspase-12 Caspase-12作为ER膜上的促凋亡分子, 是ERS介导的细胞凋亡特异性启动蛋白酶, 其活化是凋亡的中心环节^[32]。Caspase-12是较理想的抗凋亡治疗靶标^[23]。能使Caspase-12的激活机制大致可归纳为3种: (1)胞质内的游离Ca²⁺升高, 活化了钙激活蛋白酶, 其活化后从胞质移位于ER表面进而激活Caspase-12; (2)ERS也会使Caspase-7从胞质转位于ER表面, 裂解Caspase-12大小亚基之间的连接区域, 进而激活Caspase-12; (3)有关Caspase-12活化的其他机制还包括肿瘤坏死因子受体相关因子2(tumor necrosis factor receptor associated factor-2, TNF-RAF-2)^[9]。Nakagawa *et al*^[33]研究发现Caspase-12

■ 相关报道

目前, 已有研究发现熊去氧胆酸通过抑制细胞内Ca²⁺释放, 能阻抑ERS介导的肝细胞凋亡, 并能减轻ERS反应蛋白GRP78/Bip表达, 抑制ERS途径启动的Caspase-12活化, 从而阻断肝细胞凋亡, 这一抗凋亡新机制的发现为各种ERS介导肝脏疾病的治疗提供了新的思路。

■创新盘点

本文较为系统全面的综述了ERS的诱发因素、反应途径、跨膜蛋白、调控因子和伴侣蛋白,肝细胞凋亡的特点及其在肝损伤中的意义、肝细胞凋亡的途径、调控基因及诱导分子以及ERS介导肝细胞凋亡的最新研究进展。

不是分布在胞质中,而是位于ER腔内,并在ER内活化蛋白水解酶,是ER特有的Caspase. 用ER-高尔基体蛋白转运抑制剂布雷菲德菌素A(Brefeldin A), Tunicamycin(N端糖基化抑制剂)、Thapsigargin(ER膜上钙泵)处理细胞,诱导ERS反应,细胞出现凋亡,并发现Caspase-12活化及多聚核糖聚合酶活化;而Caspase-12基因缺陷细胞经上述药物诱导ERS反应时,细胞凋亡受抑,而经死亡受体和线粒体介导的凋亡途径不受影响. Mouw *et al*^[34]亦发现,敲除Caspase-12基因的细胞虽然仍对其他各种凋亡诱导因素敏感,但对ERS诱导的凋亡可产生耐受. 证明Caspase-12是ERS激活的,而非死亡受体或线粒体所介导的凋亡传导信号激活的. 这种凋亡信号传导途径最终会导致Caspase-3活化,提示ERS最后被传到了线粒体. 线粒体有可能在这种死亡途径中起综合和放大的作用^[9].

4 肝细胞凋亡的特点及其在肝损伤中的意义

细胞凋亡(apoptosis)的概念首先由英国学者Kerr *et al*于1972年提出,又称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),是受细胞外微环境和细胞内基因调控的一种细胞主动性死亡方式^[35]. 细胞凋亡过低或过高都可导致疾病的发生. 细胞凋亡是ATP供应下以基因介导的DNA非随意断裂,胞质和胞核固缩为主要标志的细胞主动死亡方式^[36]. 凋亡是涉及细胞外信号(FasI)、细胞膜受体(如Fas, TNF- α R)、Caspase蛋白酶家族、Bcl-2蛋白家族、线粒体释放细胞色素C和ERS等多种因素,最后由Caspase介导的蛋白酶级联反应过程. 细胞凋亡的诱导因素有:(1)物理性因素,如放射线、紫外线和高温;(2)化学性因素,如抗癌药物、氧自由基和一氧化氮等;(3)微生物因素,如人免疫缺陷病毒、EB病毒等;(4)缺乏细胞生长必需因子,如干细胞生长因子、促肝细胞生长素和激素等;(5)免疫因素,抗原和免疫应答中产生的细胞因子,如Fas/FasL, TNF- α , TGF- β .

肝细胞凋亡主要表现为:细胞皱缩变小,细胞膜仍保持完整性,胞质浓缩,ER扩张呈泡状并与细胞膜融合. 核染色质固缩并呈边缘化,核DNA被核酸酶降解为规则的DNA片段,电泳呈特殊的梯状区带(ladder). 凋亡后期,细胞膜内陷将细胞自行分割为多个具有完整膜结构,内含各种细胞成分的凋亡小体(apoptotic bodies),并很快被邻近的吞噬细胞所吞噬,不引起炎症反

应^[37-39]. 而肝细胞坏死多是肝细胞受各种致病因素作用所致,表现为细胞肿胀,细胞膜破裂,进而形成嗜酸性小体或溶解, DNA降解不充分,电泳呈弥散型. 后期胞质内的内容及炎症因子溢出,引起局部严重的炎症反应,并累及其他细胞^[40].

尽管肝细胞是一种相对静止的细胞,但在动物的整个生命活动中,肝脏的生理活动与细胞凋亡密切相关,衰老、限食以及各种病理因素都可诱导或抑制肝细胞凋亡^[41]. 肝细胞凋亡是调节肝组织正常细胞更新、增殖以及再生的重要机制. 多种因素可以诱导肝细胞凋亡,例如物理因素(如射线,高温)、缺血缺氧(如缺血再灌注、运动)、毒素药物或病毒感染等. 肝细胞凋亡是一柄双刃剑,它是肝细胞对抗感染肿瘤及防止肝细胞自身免疫反应的自卫措施,同时肝细胞凋亡抑制因子可以抑制肝细胞的过度凋亡,以防肝细胞过度死亡而导致肝衰竭. 因此肝细胞凋亡除发生在肝发育时和成人肝细胞更新之外,同时也是造成肝脏损伤和肝脏疾病最基本的中心环节. 肝纤维化、病毒性肝炎、移植排斥性肝炎、自身免疫性肝炎等多种肝病都表现为大量肝细胞凋亡,影响肝脏功能,加速病情恶化. 肝细胞凋亡与肝炎尤其是暴发性肝衰竭关系密切,是其发病的关键环节. 肝细胞凋亡是病毒性肝炎的一种重要病理变化,肝小叶内的点状坏死及碎屑样坏死其实质主要是肝细胞凋亡. 体外试验发现低浓度乙醇可诱导大鼠原代肝细胞凋亡,提示肝细胞凋亡可能是酒精性肝病肝细胞损伤的重要机制之一^[42-46]. 了解肝细胞凋亡的发生途径对于临床上防治各种肝脏疾病提供新的治疗思路和方法.

5 肝细胞凋亡的途径

凋亡是程序性细胞死亡,目前已知的3条凋亡途径包括死亡受体途径、线粒体途径及ERS凋亡途径. 死亡受体途径的发生是由FasL, TNF- α , TRAIL各自与相应细胞膜上受体特异结合后,募集胞质内Caspase-8或Caspase-10,并激活下游Caspase-3,引起细胞凋亡. 而线粒体途径则涉及线粒体跨膜电位消失,膜通透性改变,细胞色素C释放,活化Caspase-9. 在dATP存在时,引起下游Caspase-3, -6, -7的活化,介导细胞凋亡. ERS涉及非折叠蛋白反应以及ER内钙失衡,使Caspase-12活化,诱导GRP78/Bip, GRP94, GADD34, GADD45A, CHOP等分子伴侣产生增加,继而激

活非细胞色素C依赖的Caspase-9,引起级联反应诱导凋亡.因此,ERS是独立于细胞膜受体或线粒体途径的第3条凋亡信号途径^[16,47].

肝细胞凋亡包括内在途径和外在途径,两种信号途径的重叠导致了细胞凋亡.内在途径中,不同刺激特别是氧分压,能损坏线粒体内膜,产生线粒体膜通透性转变(mitochondrial membrane permeability transition, MPT),随后细胞色素C和凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)从线粒体中释放.在细胞质中,细胞色素C和凋亡蛋白激活因子(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)结合,激活Caspase-9前体,依次激活下游Caspase效应因子,如Caspase-3, -6, -7. MPT也能使内源G释放,将独自激活Caspase的染色体DNA分解.最后, MPT受到细胞内Bcl-2家族相当数量的抗凋亡因子(如Bcl-2, Bcl-x1)和凋亡因子(如Bax, Bad)的调控.外在途径的调控是通过细胞表面受体(Fas和TNF- α R),或通过激活细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)释放穿孔素(perforin)和颗粒酶B,并进一步激活上述受体各自的配体(FasL和TNF- α),此时配体、受体与衔接蛋白及Caspase-8前体结合,构成聚合体.这种结合体的聚合启动Caspase-8前体分裂成激活态,随后激活下游的Caspase效应因子,例如Caspase-3. CTL表达FasL,并释放含有穿孔素和颗粒酶B的颗粒,使颗粒酶B进入靶细胞.然后颗粒酶B直接将关键的细胞蛋白分解并激活Caspase前体.激活Caspase-8前体也能间接导致细胞色素C从线粒体释放,从而将内外两条途径连接起来^[37].

6 肝细胞凋亡的调控基因及诱导分子

6.1 调控基因 肝细胞凋亡不是无规律的,而是受基因调控的.参与肝细胞凋亡的基因可以简单地分为在细胞凋亡过程中表达的基因、促进细胞凋亡的基因和抑制细胞凋亡的基因.(1)促进细胞凋亡的基因,包括Bcl-2野生型p53, Bax, C-myc, TNF- α , 白细胞介素转化酶(interleukin converting enzyme, ICE), C-fos, Fas/Apo-1/CD95, Ced-3, Ced-4, TG等;(2)抑制细胞凋亡的基因,包括Bcl-2突变型p53, Ced-9, Bcl-x等;(3)在细胞凋亡过程中表达的基因,包括细胞周期蛋白D(CyclinD), TGF, Hsp-70等^[41].

目前作用较明确的基因有Bcl-2和Fas,细胞凋亡的主要调节因子是Bcl-2家族的成员.肝细胞是否发生凋亡主要受Bcl-2家族的调控, Bcl-2

家族成员分为抗凋亡和促凋亡两类蛋白. Bcl-2属原癌基因,位于18号染色体短臂,该基因与淋巴瘤有关,故称为Bcl-2. Bcl-2的mRNA长约6 kb,其编码产物位于线粒体内膜上,可抑制由多种刺激引起的细胞凋亡,具有促进细胞生存、延长细胞存活期的作用,被称为“抗凋亡基因”^[48]. Bcl-2蛋白家族细胞凋亡抑制因子有: Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bcl-XS, Mcl-1, Bfl-1, Bcl-2, Bcl-2促进因子有: Bax, Bak, Bag, Bid, Bad, Hrk, Bik. Bcl-2及其同源物主要定位于细胞膜,包括ER膜、核外膜和线粒体外膜^[39]. Bcl-2家族中抑制和促进细胞凋亡两类蛋白的比例决定了细胞在受到特定的蛋白间竞争性的二聚化作用, Bcl-2为凋亡抑制基因,主要通过防止线粒体内释放出凋亡因子来发挥抗凋亡作用, Bax与其作用相反, Bax可与Bcl-2蛋白形成异二聚体使之失活, Bax表达增强可形成同二聚体,加速细胞凋亡. Bcl-2与Bax的比例影响凋亡信号的传导,但不是决定细胞凋亡与否的唯一因素^[49-50].

6.2 诱导分子

6.2.1 细胞色素C 细胞色素C是引起细胞凋亡的关键物质,他与Apaf-1及Caspase-9结合,形成CytC-Apaf-1-Caspase-9复合物亦称凋亡体,导致Caspase-9活化,继而顺序激活下游的Caspase-3,启动凋亡蛋白酶级联反应,细胞发生凋亡^[51].

6.2.2 Caspase基因家族 Caspase基因家族在细胞凋亡的执行期发挥关键的作用,同凋亡的发生密切相关.其主要作用机制包括灭活凋亡抑制物、分解细胞结构、降低蛋白酶活性等.根据其在凋亡的不同阶段发挥作用,分为调控性和效应性Caspase. Caspase-8在细胞凋亡中发挥启动作用; Caspase-3在细胞凋亡中发挥效应作用.

6.2.3 Fas/FasL Fas是介导细胞凋亡的细胞表面蛋白,是凋亡因子受体.细胞膜上的Fas起凋亡“按钮”的作用, Fas及FasL相互作用是介导肝细胞凋亡的主要途径^[52]. Fas/FasL结合后,需要Fas蛋白的胞内区通过其C末端死亡区(death domain, DD)与Fas相关的死亡区蛋白(fas associated death domain, FADD)结合,由后者激活启动Caspase导致细胞凋亡.

6.2.4 TGF- β 1及其受体 TGF- β 1为多种组织细胞生长的抑制剂,在有丝分裂原诱导的肝细胞凋亡组织中,发现TGF- β 1的表达;体外培养的肝组织中,加入TGF- β 1可诱导肝细胞的大量凋亡,充分证实了TGF- β 1诱导肝细胞凋亡作用^[53-55]. TGF- β 1通过Caspase-8和Caspase-3的活化诱导

■应用要点

目前ERS介导肝细胞凋亡的研究越来越受到重视,通过阻断ERS所致的肝细胞凋亡途径中的各种介导分子和反应蛋白为我们的科学实验研究和临床上各种肝脏疾病提供了新的思路,探索了新的途径.

■名词解释

内质网应激: 内质网(ER)是一种重要的真核细胞器, 由于各种原因引起的ER中出现错误折叠与未折叠蛋白在腔内聚集以及Ca²⁺平衡紊乱的状态, 称为ER应激(ER Stress, ERS).

鼠肝细胞产生凋亡. TGF- β R是目前已知参与肝细胞凋亡的其中一个受体, 他通过丝氨酸或苏氨酸激酶的级联反应而诱导肝细胞凋亡, 凋亡的肝细胞分泌TGF- β , TGF- β 作用于星状细胞, 使之成为激活的肌纤维细胞, 肌纤维细胞又分泌TGF- β , 进一步导致肝细胞的凋亡^[56].

6.2.5 TNF- α TNF- α 是肝脏的一个主要炎症因子和效应分子, 他与肝细胞凋亡的关系甚为密切. 肝组织中单核巨噬细胞是产生和释放TNF- α 的主要细胞^[57]. 因此TNF- α 在肝脏中的含量较其他组织多, 诱导产生的氧自由基以及多基因的激活共同导致的肝细胞凋亡在肝损害的发生、发展过程中有十分重要的作用. TNF- α 诱导肝细胞损伤的机制可能有: (1)TNF- α 与TNFR1的胞外区结合后, 引起TNFR1的三聚, 三聚的TNF-R1通过其聚集的胞内死亡结构域招募下游的信号传导蛋白如TRADD, FADD, TRAF和RIP等组装成庞大的TNF-R1信号复合体, 再激活下游的各条信号传导通路, 最后激活NF- κ B、JNK激酶, 诱导细胞凋亡; (2)细胞中ASK1与其抑制性蛋白Trx结合, 当细胞受到TNF- α 刺激后, 可通过某中未知的机制产生活性氧自由基, 活性氧自由基引起Trx从ASK1上脱落, ASK1最终可激活JNK和p38激酶诱导细胞凋亡; (3)TNF- α 能介导脂类介质或其他肽类介质产生, 诱导自由基的产生及脂质过氧化, 活化中性粒细胞和单核巨噬细胞以及对内皮细胞的作用^[58]. 谭春雨 *et al*^[59]研究显示, 在大鼠二甲基亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化模型中肝细胞凋亡数量明显增多. 其原因可能与模型组活化HSC增多、血窦内皮细胞受损以及枯否细胞增多等有关, 因为活化后的HSC、受损的内皮细胞等分泌TGF- β , TNF- α 等细胞刺激因子的能力明显增强, 而枯否细胞也可以分泌这些细胞因子, 这些细胞因子被证实有促进肝细胞凋亡的作用. 且模型大鼠肝脏严重的微循环障碍引起的肝细胞营养不良和代谢紊乱也可能是诱发肝细胞病理性凋亡的因素.

6.2.6 穿孔素和颗粒酶B CTL释放的穿孔素和颗粒酶B也是介导肝细胞凋亡的重要因素^[38].

6.2.7 内毒素(endotoxin, ET) ET产生病理损害主要是通过TNF- α 介导, 其自身与肝细胞混合培养也可直接致肝细胞凋亡. 梁秀彬 *et al*^[60]研究表明, 内毒素可诱导体外培养大鼠肝细胞凋亡.

6.2.8 胆红素 胆红素可直接介导肝细胞凋亡, 且与浓度呈正相关^[55]. 梗阻性黄疸时肝细胞损害机制可能是由于胆酸盐促进肝实质的细胞凋亡

所致.

7 ERS介导肝细胞凋亡研究进展

DNA损伤和细胞膜死亡受体聚集长期以来被认为是诱导MPT和Caspase直接活化的细胞凋亡始动点^[16]. 越来越多的证据表明, ER、溶酶体和高尔基体等其他细胞器也是损伤感知或凋亡信号整合的主要位点^[33]. ERS既是细胞抵抗应激的重要机制, 也是应激损伤细胞的重要机制. 一定程度的ERS能激活细胞保护机制, 例如增加分子伴侣表达, 诱导未折叠蛋白反应, 表现为蛋白质合成暂停, 随着应激反应蛋白基因表达的增加, 可进一步改善细胞生理状态, 起到细胞保护作用; 相反, 当应激原强度超过细胞自身处理能力时, 保护机制不能与损伤抗衡, ERS可通过Caspase-12启动特有的ER性细胞凋亡途径, 这种凋亡途径是不同于受体介导或经线粒体介导的一种新的细胞凋亡途径, 称为ER相关性死亡(ER associated death, ERAD)途径^[61].

ER既含有促进凋亡的因子如Caspase-12, CHOP/GADD153, 也含有抑制因子如Bax Inhibitor I, GRP78, GRP150. ERS过强时, 促凋亡机制占主导, 能够独立地诱导细胞凋亡, 其主要机制包括: (1)激活Caspase-12: Caspase家族成员Caspase-8, 9, 3, 7等是死亡受体、线粒体损伤通路致细胞凋亡的重要介质, 位于ER胞质面的Caspase-12则是ERS致凋亡的特异性介质, 仅与ER的凋亡通路有关. ERS下, 胞质Caspase-7转位至ER表面, 酶切Caspase-12从而激活了后者. GRP78可抑制Caspase-12所致凋亡, 因为GRP78被UPR诱导表达并重新分布, 在胞质中形成亚群并充当ER膜蛋白, 可与Caspase-7和Caspase-12形成复合物, 阻止Caspase-12激活并阻止其从ER释放; (2)诱导CHOP表达: CHOP属于C/EBP转录因子家族, 常与该家族的其他成员形成二聚体, 其基因含有ERSE, 可被ER应激诱导表达继而促进凋亡, 机制包括下调Bcl-2表达、耗竭谷胱甘肽、促进反应氧族产生等; (3)激活线粒体介导的凋亡通路: 酪氨酸激酶C-Abl是ER激活线粒体凋亡通路的信号分子. C-Abl不仅存在于胞核和胞质中, 还有20%以上存在于ER中. ERS可使ER的C-Abl转位至线粒体, 继而促进线粒体释放促凋亡因子细胞色素C, 线粒体与ER中的Bcl-2则抑制其释放^[62]; (4)其他机制: 例如活化的跨膜蛋白激酶在肿瘤坏死因子相关因子2(tumor necrosis factor associated factor2, TRAF2)协助下激活

JNK, 后者是与细胞增殖、分化以及应激诱导凋亡等多种过程相关的信号转导蛋白, 在一定条件下诱导凋亡^[8]。

多种肝脏疾病的发生与ERS介导的细胞凋亡有关^[63]。Caspase-12是ERS介导凋亡途径的关键蛋白酶。正常情况下Caspase-12以procaspase-12蛋白酶原的形式存在, ERS时, 在天冬氨酸残基的羧基端水解肽链去除原域, 成为有活性的Caspase-12蛋白酶, 他通过依次激活Caspase-9, -3引起细胞凋亡。Masud *et al*^[64]研究证实了Caspase-9, -3在ERS介导的细胞凋亡内在性途径中起了关键的作用。当肝细胞发生凋亡时, procaspase-12蛋白量明显减少^[23]。有研究发现, ERS介导Caspase-12活化参与了炎症性急性肝功能衰竭肝细胞凋亡的过程, 也是急性肝功能衰竭肝细胞发生坏死的一种新机制和新模式。在酒精性肝病的患者, 肝细胞凋亡和坏死是并存的。乙醇可通过激活肝微粒体细胞色素P450、影响甲基转移和影响蛋氨酸的代谢, 从而促进未折叠蛋白反应和ER超负荷反应通路, 促进ERS的发生, 引起细胞凋亡及影响脂类代谢。近来国外报道, 在乙醇饲养的酒精性肝损伤动物模型中发现, ERS应答基因GRP78、GRP94、CHOP、胆固醇调节元件结合蛋白(sterol response element binding proteins, SREBPs)表达增加^[65]。谷氨酰胺能够降低阻塞性黄疸肝细胞凋亡, 增加Bcl-2蛋白表达, 降低Bax蛋白表达^[66]。韦新 *et al*^[67]研究发现牛磺酸具有抑制细胞因子TGF- β 的表达。研究还表明: 牛磺酸具有抑制肝细胞凋亡的作用, 机制可能与增强Bcl-2表达及抑制Bax, TGF- β 的表达有关^[49]。茵陈术附汤通过促进Bcl-2表达和抑制Bax表达阻断阴黄证大鼠肝细胞凋亡, 可能是其治疗阴黄证的机制之一^[68]。近年来的研究发现, 将Bcl-2转基因表达于重型肝炎模型小鼠的肝细胞, 可保护小鼠肝脏功能。将Bcl-2转基因表达于FasL和TNF- α 诱导的小鼠肝细胞, 可以保护肝细胞的凋亡^[69]。Xie *et al*^[70]研究发现熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)通过抑制细胞内Ca²⁺释放, 能阻抑ERS介导的肝细胞凋亡, 并能显著降低由TG引起的胞质内Ca²⁺水平升高, 减轻ERS反应蛋白GRP78/Bip表达, 并抑制ERS途径启动的Caspase-12活化, 从而阻断肝细胞凋亡。这一抗凋亡新机制的发现为各种ERS介导肝脏疾病的治疗提供了新的思路。

8 结语

近年来研究表明, 肝细胞的异常凋亡(增强或减弱)同许多疾病的形成密切相关, 包括肿瘤、自身免疫性疾病和病毒感染等。在各种急慢性肝损伤中也可观察到异常的细胞凋亡现象。目前已证明病毒感染、毒性物质、酒精和辐射等均可诱发肝细胞凋亡, 因此针对肝细胞异常凋亡的治疗措施可为各种肝病治疗提供新对策。阻断肝细胞凋亡信号传导及促凋亡基因表达或上调抗凋亡基因的表达均可防止肝细胞凋亡。目前有关肝细胞凋亡的研究进展很快, 肝细胞凋亡的机制得到进一步揭示, 在ERS介导肝细胞凋亡方面, 可以通过抑制细胞内Ca²⁺释放, 降低胞质内Ca²⁺水平, 抑制ERS跨膜蛋白(IRE1, PERK和ATF6)的激活, 减轻ERS反应蛋白GRP78/Bip表达和降低伴侣蛋白(GRP94, GADD34, GADD45A, CHOP等)的表达, 并抑制ERS途径启动的Caspase-12活化, 从而阻断肝细胞凋亡途径来治疗肝细胞凋亡引起的各种肝脏疾病, 并为我们的科学实验研究和临床上各种肝脏疾病, 如肝癌、肝移植排斥反应、药物性肝炎、自身免疫性肝病、酒精性肝病等引起的肝损伤的防治提供了新的思路, 探索了新的途径。

9 参考文献

- 1 姜山, 谢青. 内质网应激与细胞凋亡. 国外医学·流行病学传染病学分册 2004; 31: 330-333
- 2 姜利霞. 内质网应激与心血管疾病. 中国分子心脏病学杂志 2005; 5: 496-499
- 3 Ji C, Kaplowitz N. Betaine decreases hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and liver injury in alcohol-fed mice. *Gastroenterology* 2003; 124: 1488-1499
- 4 Rodrigues CM, Ma X, Linehan-Stieers C, Fan G, Kren BT, Steer CJ. Ursodeoxycholic acid prevents cytochrome c release in apoptosis by inhibiting mitochondrial membrane depolarization and channel formation. *Cell Death Differ* 1999; 6: 842-854
- 5 Pavio N, Romano PR, Graczyk TM, Feinstone SM, Taylor DR. Protein synthesis and endoplasmic reticulum stress can be modulated by the hepatitis C virus envelope protein E2 through the eukaryotic initiation factor 2alpha kinase PERK. *J Virol* 2003; 77: 3578-3585
- 6 Tardif KD, Mori K, Siddiqui A. Hepatitis C virus subgenomic replicons induce endoplasmic reticulum stress activating an intracellular signaling pathway. *J Virol* 2002; 76: 7453-7459
- 7 林丽, 唐朝枢, 袁文俊. 内质网应激. 生理科学进展 2003; 34: 333-335
- 8 郭伟, 张木勋. 内质网应激与肥胖、胰岛素抵抗、2型糖尿病. 医师进修杂志 2005; 28: 56-58
- 9 赵泽燕. 内质网应激与未成熟脑组织缺氧缺血性脑损伤. 中华医学写作杂志 2005; 12: 1236-1239
- 10 李载权, 周爱儒, 唐朝枢. 内质网应激反应分子机理研究进展. 中国生物化学与分子生物学报 2004; 20:

■同行评价

本文对内质网应激与肝细胞凋亡进行了全面的综述, 有一定的可读性, 能较好地反映我国甚至国际上该领域的基础研究水平, 是一篇较好的文章。

- 283-288
- 11 俞雅萍, 晏春根. 糖尿病发病与内质网应激. 中国临床康复 2005; 9: 139-141
- 12 祝筱梅, 刘秀华. 内质网应激与缺血再灌注损伤及其防护. 国际病理科学与临床杂志 2006; 26: 177-181
- 13 方欢, 申宗侯. 内质网应激. 医学分子生物学杂志 2004; 1: 36-39
- 14 Araki E, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228: 1213-1217
- 15 冯献启. 内质网应激反应性凋亡途径研究进展. 国外医学肿瘤学分册 2004; 31: 726-730
- 16 Kondo S, Saito A, Hino S, Murakami T, Ogata M, Kanemoto S, Nara S, Yamashita A, Yoshinaga K, Hara H, Imaizumi K. BZF2H7, a novel transmembrane bZIP transcription factor, is a new type of endoplasmic reticulum stress transducer. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1716-1729
- 17 Ferri KF, Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death pathways. *Nat Cell Biol* 2001; 3: E255-263
- 18 Haynes CM, Titus EA, Cooper AA. Degradation of misfolded proteins prevents ER-derived oxidative stress and cell death. *Mol Cell* 2004; 15: 767-776
- 19 Patil C, Walter P. Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus: the unfolded protein response in yeast and mammals. *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 349-355
- 20 DeGracia DJ, Kumar R, Owen CR, Krause GS, White BC. Molecular pathways of protein synthesis inhibition during brain reperfusion: implications for neuronal survival or death. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002; 22: 127-141
- 21 卓德祥, 唐朝枢, 李载权. 内质网应激反应基因表达调控的多样性. 医学分子生物学杂志 2006; 3: 32-35
- 22 Rao RV, Hermel E, Castro-Obregon S, del Rio G, Ellerby LM, Ellerby HM, Bredesen DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation. *J Biol Chem* 2001; 276: 33869-33874
- 23 Morishima N, Nakanishi K, Takenouchi H, Shibata T, Yasuhiko Y. An endoplasmic reticulum stress-specific caspase cascade in apoptosis. Cytochrome c-independent activation of caspase-9 by caspase-12. *J Biol Chem* 2002; 277: 34287-34294
- 24 刘春岭, 黄如训. 脑缺血时的内质网应激反应与细胞凋亡. 国外医学脑血管疾病分册 2004; 12: 536-539
- 25 张忠彬, 夏昭林. 内质网应激与疾病. 国外医学卫生学分册 2003; 30: 141-145
- 26 董毅龙. 内质网应激与糖尿病. 国外医学生理、病理科学与临床分册 2004; 24: 508-510
- 27 Matsuzawa A, Nishitoh H, Tobiume K, Takeda K, Ichijo H. Physiological roles of ASK1-mediated signal transduction in oxidative stress- and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis: advanced findings from ASK1 knockout mice. *Antioxid Redox Signal* 2002; 4: 415-425
- 28 Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A, Ichijo H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes Dev* 2002; 16: 1345-1355
- 29 Lee AS. The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. *Methods* 2005; 35: 373-381
- 30 王大鹏, 李波, 方文刚, 陈誉华, 宋今丹. 内质网应激条件下血管内皮细胞生长因子在人脑微血管内皮细胞中的表达. 细胞生物学杂志 2005; 27: 191-195
- 31 李姣, 申宗侯. 内质网驻留的分子伴侣与内质网应激的细胞内信号传导途径. 中国药物与临床 2005; 5: 245-249
- 32 刘芳, 邹萍, 陈敏, 张敏, 吴耀辉, 肖娟. Caspase-12短发夹状RNA在内质网应激性凋亡中的作用. 中华实验外科杂志 2005; 22: 1568-1570
- 33 Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature* 2000; 403: 98-103
- 34 Mouw G, Zechel JL, Gamboa J, Lust WD, Selman WR, Ratcheson RA. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum resident caspase, after permanent focal ischemia in rat. *Neuroreport* 2003; 14: 183-186
- 35 杨欣荣, 陈钟. 肝细胞移植中肝细胞凋亡的研究进展. 国外医学外科学分册 2005; 32: 408-441
- 36 包维民, 郭永章, 李立, 唐映梅. 大鼠肝移植缺血再灌注损伤对肝细胞凋亡、胀亡及再生的影响. 昆明医学院学报 2005; 1: 9-12
- 37 李善妮, 瞿树林, 汤长发. 肝细胞凋亡与自身免疫的关系及影响因素. 中国免疫学杂志 2006; 22: 93-96
- 38 顾长海. 肝细胞凋亡发生机理和检测技术简评. 中国检验医学与临床 2000; 1: 29-30
- 39 孙凯, 刘志苏, 孙权. 线粒体在缺血预处理肝细胞凋亡中的作用. 陕西医学杂志 2003; 32: 967-970
- 40 程丽彩, 何玉秀. 运动与肝细胞凋亡研究进展. 中国运动医学杂志 2006; 25: 623-626
- 41 刘立跃, 傅童生. 肝细胞凋亡的基因调控. 实验动物科学与管理 2005; 22: 33-36
- 42 谢青, 李光明. 熊去氧胆酸抗肝细胞凋亡分子机制研究进展. 世界临床药物 2004; 25: 679-682
- 43 张定凤. 肝细胞凋亡和病毒性肝炎. 中华肝脏病杂志 1996; 4: 182-186
- 44 周伟. RNA干扰在肝病研究中的进展. 国外医学消化系疾病分册 2004; 24: 296-298
- 45 臧国庆, 周霞秋, 俞红, 谢青, 王斌, 赵国明, 郭清, 向月琴, 廖丹. 肿瘤坏死因子- α 诱导肝细胞凋亡在暴发性肝衰竭中的作用. 中华消化杂志 2000; 20: 163-166
- 46 吕游. 肝脏疾病中肝细胞凋亡的研究进展. 中国基层医药 2005; 12: 1444-1446
- 47 刘芸野, 谢青. 活性氧与内质网应激介导肝细胞凋亡研究进展. 肝脏 2006; 11: 281-283
- 48 王震侠, 张瑞明, 欧阳晓晖, 蔡继峰. 大鼠肝脏缺血不同时间再灌注时肝细胞凋亡的动态变化及凋亡相关基因Bcl-2的表达. 肝胆胰外科杂志 2004; 16: 250-252
- 49 韦新, 梁健, 毛德文, 张锡流, 陈国忠, 盛庆寿. 牛磺酸对大鼠肝细胞凋亡的作用. 广西医学 2004; 26: 945-946
- 50 Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993; 74: 609-619
- 51 Jiang X, Wang X. Cytochrome C-mediated apoptosis. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 87-106
- 52 曲宝戈, 严茂祥, 陈芝芸, 项柏康. 肝纤维化大鼠肝细胞凋亡和增生的关系. 世界华人消化杂志 2004; 12: 990-993
- 53 谈景旺. 细胞凋亡与肝细胞损伤. 国外医学生理、病理科学与临床分册 1998; 18: 76-78
- 54 Kennedy JA, Lewis H, Clements WD, Kirk SJ, Campbell G, Halliday MI, Rowlands BJ. Kupffer cell blockade, tumour necrosis factor secretion and survival following endotoxin challenge in

- experimental biliary obstruction. *Br J Surg* 1999; 86: 1410-1414
- 55 Scopa CD, Koureleas S, Tsamandas AC, Spiliopoulou I, Alexandrides T, Filos KS, Vagianos CE. Beneficial effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on intestinal bacterial translocation, endotoxemia, and apoptosis in experimentally jaundiced rats. *J Am Coll Surg* 2000; 190: 423-431
- 56 张中乐, 刘金彪, 权松霞. 肝脏缺血再灌注损伤和肝细胞凋亡. 河南科技大学学报(医学版) 2003; 21: 77
- 57 李晶媛, 李树臣, 杨维良. TNF- α 诱导肝细胞凋亡机制的回顾与展望. 世界华人消化杂志 2007; 15: 606-611
- 58 吴红红, 李保华, 迪丽努尔·吐尔洪, 王红梅, 张建龙. 脓毒症模型大鼠肿瘤坏死因子- α 和肝细胞凋亡的关系. 新疆医科大学学报 2005; 28: 131-133
- 59 谭春雨, 谭善忠, 蒋健, 徐列明. 扶正化瘀方对DMN肝纤维化模型鼠肝细胞凋亡的影响. 上海中医药杂志 2005; 39: 47-49
- 60 梁秀彬, 乔中东, 尹镭, 赵嘉惠, 韩德五. 内毒素体外诱导大鼠肝细胞凋亡. 中华肝脏病杂志 1999; 7: 72-73
- 61 Oyadomari S, Araki E, Mori M. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in pancreatic beta-cells. *Apoptosis* 2002; 7: 335-345
- 62 Ito Y, Pandey P, Mishra N, Kumar S, Narula N, Kharbanda S, Saxena S, Kufe D. Targeting of the c-Abl tyrosine kinase to mitochondria in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 6233-6242
- 63 Waris G, Tardif KD, Siddiqui A. Endoplasmic reticulum (ER) stress: hepatitis C virus induces an ER-nucleus signal transduction pathway and activates NF-kappaB and STAT-3. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 1425-1430
- 64 Masud A, Mohapatra A, Lakhani SA, Ferrandino A, Hakem R, Flavell RA. Endoplasmic reticulum stress-induced death of mouse embryonic fibroblasts requires the intrinsic pathway of apoptosis. *J Biol Chem* 2007; 282: 14132-14139
- 65 Shen J, Snapp EL, Lippincott-Schwartz J, Prywes R. Stable binding of ATF6 to BiP in the endoplasmic reticulum stress response. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 921-932
- 66 程雷, 谭广, 王举, 石爱平, 谭毓铨, 王忠裕. 谷氨酰胺对阻塞性黄疸大鼠肝细胞凋亡和相关基因Bcl-2及Bax表达的影响. 吉林大学学报(医学版) 2005; 31: 675-677
- 67 韦新, 梁健, 张锡流, 毛德文, 韦明. 牛磺酸对肝纤维化大鼠转化生长因子 β_1 和肿瘤坏死因子的影响. 广西医学 2003; 25: 2099-2101
- 68 张建军, 何敢想, 张赤志. 茵陈术附汤对阴黄证大鼠肝细胞凋亡及Bcl-2和Bax表达的影响. 中西医结合学报 2003; 1: 116-118
- 69 陈辉. 脓毒症与肝细胞凋亡. 《国外医学》麻醉学与复苏分册 2001; 22: 225-227
- 70 Xie Q, Khaoustov VI, Chung CC, Sohn J, Krishnan B, Lewis DE, Yoffe B. Effect of tauroursodeoxycholic acid on endoplasmic reticulum stress-induced caspase-12 activation. *Hepatology* 2002; 36: 592-601

编辑 何燕 电编 张敏

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第四届哈尔滨全国消化内镜学术会议通知

本刊讯 为促进消化内镜诊治技术的发展和学术交流, 由中华消化内镜学会、黑龙江省医学会、黑龙江省医院、黑龙江省临床消化病研究所联合举办的第四届全国消化内镜学术会议定于2007-12-22/23在哈尔滨召开. 大会将邀请国内外著名专家作消化内镜进展方面专题报告及内镜演示, 并制定中华消化内镜学会消化内镜消毒指南(讨论稿). 欢迎消化届同仁积极投稿及参与, 参会代表授予国家继续教育 I 类学分.

1 投稿要求

论著要求800字以内摘要(目的、方法、结果、结论), 电脑打印(WORD格式), 网上投稿. 截稿时间: 2007-10-31.

2 联系方式

150001, 哈尔滨和平邨宾馆(中山路171号), 哈尔滨市果戈里大街405号, 黑龙江省医院, 联系人: 朱春兰, 电话: 13845048249或0451-88025055, 传真: 0451-53625617, E-mail: zhuchulan@medmail.com.cn