

# TNF- $\alpha$ 诱导肝细胞凋亡机制的回顾与展望

李晶媛, 李树臣, 杨维良

## ■背景资料

肝细胞损伤是一种由多因素介导的复杂生物学过程, 涉及多种学说和机制, 而凋亡是肝损伤的一个基本特征, 在某些急慢性肝病中, 肝细胞凋亡引起的肝细胞损伤可能起主要作用。迄今为止, 对死亡受体活化诱导肝损伤的研究有较飞速的进展。

李晶媛, 李树臣, 哈尔滨医科大学附属第二临床医学院感染科 黑龙江省哈尔滨市150086

杨维良, 哈尔滨医科大学附属第二临床医学院普外三科 黑龙江省哈尔滨市150086

通讯作者: 李树臣, 150086, 黑龙江省哈尔滨市学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院感染科. shuchenli@yahoo.com.cn  
电话: 0451-86671309 传真: 0451-86605614

收稿日期: 2006-11-09 接受日期: 2006-12-27

## Review and prospect on mechanisms of tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis in liver injury

Jing-Yuan Li, Shu-Chen Li, Wei-Liang Yang

Jing-Yuan Li, Shu-Chen Li, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Wei-Liang Yang, the Third Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Shu-Chen Li, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. shuchenli@yahoo.com.cn  
Received: 2006-11-09 Accepted: 2006-12-27

## Abstract

Hepatocyte apoptosis induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) is implicated in a variety of liver diseases. TNF- $\alpha$  exerts various effects in cell apoptosis, which are mainly mediated by TNF-receptor 1 (TNF-R1). The responses of TNF-R1 resulted in the activation of multiple apoptotic pathways involving the activation of the pro-death Bcl-2 family proteins, reactive oxygen species, c-Jun NH2-terminal kinase, cathepsin B, acidic sphingomyelinase and neutral sphingomyelinase. These pathways are closely interlinked, and mainly act on mitochondria, which release the apoptogenic factors and other substances, leading to cell apoptosis. In this article, we reviewed the mechanisms of TNF- $\alpha$ -induced apoptosis of liver cells.

Key Words: Apoptosis; Mitochondria; Bcl-2 family protein; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Reactive oxygen species; Liver injury

Li JY, Li SC, Yang WL. Review and prospect on mechanisms of tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis in liver injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007;15(6):606-611

## 摘要

在多种肝脏疾病中都涉及到TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡。TNF- $\alpha$ 在细胞凋亡过程中发挥多种效应, 主要由TNF-R1介导。TNF-R1的激活导致了多种凋亡途径的激活, 包括促凋亡的Bcl-2家族蛋白、活性氧、c-Jun NH2-末端激酶、组织蛋白酶B、酸性鞘磷脂酶及中性鞘磷脂酶。这些途径密切相关并主要作用于线粒体, 线粒体释放致凋亡因子及其他物质, 导致细胞凋亡。

关键词: 凋亡; 线粒体; Bcl-2家族蛋白; TNF- $\alpha$ ; 活性氧; 肝损伤

李晶媛, 李树臣, 杨维良. TNF- $\alpha$ 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(6):606-611

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/606.asp>

## 0 引言

肝细胞凋亡参与了多种急慢性肝脏疾病的发生、发展过程, 如病毒性肝炎、酒精性肝病、非酒精性脂肪肝、胆汁淤积性肝病及缺血-再灌注损伤等等, 是肝细胞损伤的重要机制之一<sup>[1]</sup>。肝细胞凋亡有二种诱导途径: 死亡受体途径(外源性途径)或线粒体途径(内源性途径)。死亡受体途径主要通过死亡受体配体与死亡受体结合而起动, 这些配体包括TNF- $\alpha$ 、FasL及肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL)。相比之下, 线粒体途径是由细胞内多种应激反应触发的, 如DNA损伤、生长因子缺乏、代谢紊乱等等。在肝细胞凋亡中, 这两种途径并非相互排斥, 而是密切相连的, 因为由死亡受体诱导的凋亡信号相对较弱, 通常需要通过线粒体途径的放大效应来实现<sup>[2]</sup>。本文重点总结了TNF- $\alpha$ 介导肝细胞凋亡的多种作用机制, 以期对进一步的研究及临床应用产生促进作用。

## 1 TNF- $\alpha$ 在肝病中的作用

TNF- $\alpha$ 是一种多效的促炎症反应细胞因子, 主要由活化的巨噬细胞产生, 还有少部分由其他细胞产生. TNF- $\alpha$ 由TNF-R1和TNF-R2介导发挥多种效应, 但其诱导凋亡效应主要由TNF-R1介导<sup>[3]</sup>. TNF- $\alpha$ 可以诱导肉瘤细胞死亡, 因而作为一种抗肿瘤因子首次被人们认识. 然而, 应用TNF- $\alpha$ 进行系统抗肿瘤治疗的努力并未成功, 因为其产生的副作用比其治疗作用来得更快, 其副作用之一就是由于广泛的肝细胞凋亡产生的肝毒性. 随后的研究显示, TNF- $\alpha$ 可能与病毒性肝炎、酒精性肝炎、缺血-再灌注肝损伤及暴发性肝衰竭的发生、发展有关. 暴发性肝炎患者血清中TNF- $\alpha$ 显著升高<sup>[4]</sup>. 在病毒性肝炎中, 常常可以观察到血浆中TNF- $\alpha$ 及TNF-R水平有所升高<sup>[5]</sup>. 在酒精性肝炎中, 也有若干有力的证据显示TNF- $\alpha$ 与其发病相关: (1)在肠内灌注乙醇的模型中, TNF-R1基因敲除的小鼠肝脏损伤较野生型及TNF-R2基因敲除的小鼠明显减轻<sup>[6]</sup>; (2)在酒精性肝炎患者中, 血清TNF- $\alpha$ 水平升高, 其水平与患者的生存率呈负相关<sup>[7]</sup>; (3)在慢性乙醇喂饲的小鼠中, TNF- $\alpha$ 的产生有所增加, 慢性乙醇喂饲可以增加肠道对细菌产物(如脂多糖LPS)的通透性<sup>[8]</sup>; (4)对患者的遗传学研究显示, 这些患者的TNF- $\alpha$ 启动子中有一个突变, 可增加其活性<sup>[9]</sup>. 此外, 肝脏的缺血-再灌注损伤也可以使TNF- $\alpha$ 产生增加<sup>[10]</sup>.

## 2 TNF- $\alpha$ 诱导的多种肝细胞凋亡途径

在肝细胞中, TNF- $\alpha$ 可以诱导多种机制来启动凋亡, 导致随后的肝脏损伤. TNF- $\alpha$ 诱导凋亡主要由TNF-R1介导. TNF-R1含有3个功能域, 通过不同的细胞内接头蛋白间的相互作用转导唯一的细胞内信号<sup>[3]</sup>. 他们是C-端死亡域、中间的A-SMase(酸性鞘磷脂酶)活化域(ASD)和N-末端N-SMase(中性鞘磷脂酶)活化域(NSD). 死亡域既可以介导促凋亡途径, 也可以介导抗凋亡途径, 而另两种鞘磷脂酶途径主要起调节凋亡及炎症反应的作用. 目前已证实, 以下论及的凋亡信号途径在TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡及肝损伤中占有重要地位. 然而, 在所有的凋亡途径中, 线粒体似乎是TNF- $\alpha$ 诱导肝细胞凋亡的中心执行者, 因为似乎所有的信号物质均直接或间接地以线粒体为靶目标.

2.1 线粒体凋亡途径 TNF-R1与TNF- $\alpha$ 结合后, 其死亡域募集一种接头分子TRADD, 形成第一个

蛋白复合物(复合物I), 其中包括TRAF2<sup>[11]</sup>. 复合物I随后与TNF-R1分离并在胞质溶胶中形成另一种不同的复合物(称为复合物II), 其中包含FADD, c-FLIP, CIAP1/2, TRAF2及caspase-8<sup>[11]</sup>. 然而, 在肝细胞中此种caspase-8复合物的活性相当微弱, 需要经过线粒体途径进一步放大. 线粒体途径由Bcl-2家族蛋白调控<sup>[2]</sup>. 抗凋亡Bcl-2家族蛋白(如Bcl-2和Bcl-xL)抑制线粒体凋亡途径, 而促凋亡Bcl-2家族蛋白(如Bid、Bax和Bak)促进线粒体凋亡途径<sup>[2]</sup>.

caspase-8可以切割Bid(一种仅含BH3结构域的Bcl-2家族蛋白)形成活性片段tBid. tBid随后引起线粒体嵴重组<sup>[12-13]</sup>, 或者与Bax或Bak相互作用引起线粒体凋亡因子(如细胞色素C和Smac/Diablo)的释放. 特别是线粒体通透性的转变(MPT), 他作为细胞色素C释放的一种重要调控机制同样由TNF- $\alpha$ 诱导, 并在很大程度上依赖于Bid<sup>[14-15]</sup>. MPT的发生是由于MPT孔的开放, MPT孔对溶质有较高的传导性, 其分子量约为1500 Da<sup>[16]</sup>. 其结果是线粒体去极化, 线粒体通透性转变引起胞内致凋亡蛋白的释放. 此外, MPT的活化可导致活性氧的产生, 而活性氧反过来可进一步增强线粒体通透性转变<sup>[16]</sup>. 单独应用环孢菌素A或与其增强剂合用来抑制MPT可以抑制TNF- $\alpha$ 诱导的细胞色素C释放、caspase活化及肝细胞凋亡<sup>[15-16]</sup>. 随着细胞色素C的释放, 将会形成一种含有APAF-1, 细胞色素C及caspase-9的高分子量复合物<sup>[17]</sup>, 此复合物反过来会活化一种重要的执行者, 即caspase-3. 此外, 释放出来的Smac/Diablo与XIAP结合, 使其对caspase-9和caspase-3的抑制作用减弱, 进而导致caspase-9和caspase-3的充分激活<sup>[18-19]</sup>. 上述发现可以说明, 线粒体途径或Bid在TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡中占有重要作用. 此外, Bid非依赖机制也同样存在. 业已证明, 原代培养的Bid基因敲除小鼠的肝细胞对TNF- $\alpha$ /放线菌素具有抵抗力, 然而, 24 h后他们最终死亡<sup>[12,15]</sup>. 对Bid基因敲除小鼠给予LPS及GalN, 显示他们对LPS及GalN引起的损伤也仅有部分保护作用<sup>[20]</sup>. 这些研究表明, 尽管Bid在TNF- $\alpha$ 诱导的凋亡及肝损伤中有重要的作用, 但Bid非依赖性的凋亡机制也同样参与细胞凋亡.

2.2 Bax及Bak的活化 Bax及Bak是具有多个结构域的促凋亡蛋白, 他们诱导线粒体凋亡途径的发生. 同时去除Bax及Bak(而不是其中一种), 可使细胞对各种引起线粒体死亡的刺激产生完

### ■研发前沿

TNF- $\alpha$ 诱导肝细胞凋亡的作用机制较为复杂. 其中, TNF-R1的激活导致了多种凋亡途径的激活, 直接针对TNF- $\alpha$ 凋亡信号途径的研究可能为未来的肝病治疗提供可行的对策, 具有重要意义.

### ■创新盘点

本文从Bcl-2家族蛋白、活性氧、c-Jun NH<sub>2</sub>-末端激酶、组织蛋白酶B等多种途径出发,较为全面、系统的总结了TNF- $\alpha$ 介导肝细胞凋亡的多种作用机制及其与线粒体凋亡途径的关系。

全的拮抗作用,这些刺激包括DNA损伤、生长因子的缺乏、内质网应激以及由Bid介导的内源性死亡信号<sup>[21]</sup>。TNF- $\alpha$ 刺激后,Bax及Bak均可由Bid活化<sup>[12,15,21]</sup>。可以观察到,在健康细胞中,Bax通常定位于胞质溶胶内,而在死亡刺激物作用后,Bax向线粒体移位并定位于线粒体中。事实上,在活体肝组织内,经TNF- $\alpha$ /GalN或LPS/GalN处理后,Bax移位至肝线粒体<sup>[20,22]</sup>。除了移位,Bax还会改变构象以促进其插入线粒体膜内并启动凋亡机制<sup>[23]</sup>。对LPS/GalN模型的研究证实,Bax插入线粒体膜依赖于Bid<sup>[20]</sup>。Bax及Bak可能有不同的活化途径,因此他们的功能可能并非完全相同。

**2.3 活性氧(ROS)** ROS在促凋亡过程中发挥重要作用。ROS可由内质网、核膜及质膜产生,但ROS主要来源于线粒体。在转录抑制剂存在的条件下,还原型谷胱甘肽的缺乏可使小鼠肝细胞对TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡更加敏感,提示ROS在TNF- $\alpha$ 诱导的肝损伤中起关键作用<sup>[24-25]</sup>。硫氧还蛋白是一种小分子氧化还原剂激活蛋白,具有抗氧化作用,其过量的表达可以减弱LPS/GalN诱导的小鼠肝脏损伤<sup>[26]</sup>。这一实验进一步证明了ROS在TNF- $\alpha$ 诱导的肝损伤中的关键作用。Bcl-2家族蛋白在ROS的调控中可能扮演重要作用。Bcl-2及Bcl-xL可能具有抗氧化物作用,因而发挥抗凋亡活性<sup>[27]</sup>。Bcl-2基因敲除小鼠对促氧化剂有高度的敏感性,表现出显著增强的氧化应激反应<sup>[28]</sup>。另一方面,促凋亡Bcl-2分子可能同促氧化剂发挥同样的功能。Bax的过量表达可使超氧化物的产生增加<sup>[29]</sup>。近年发现,Bid与TNF-R1活化后的大多数ROS产生有关,并且ROS主要由线粒体产生<sup>[12]</sup>。一种SOD模拟物(MnTBAP)及一种维他命E模拟物(Trolox)可抑制caspase-3、-8、-9的活化,并有效抑制肝细胞的凋亡。ROS可以通过诱导线粒体嵴重组及脂质过氧化反应而促进细胞色素C的释放,而这一过程可被抗氧化物抑制。

**2.4 c-Jun NH<sub>2</sub>-末端激酶** c-Jun NH<sub>2</sub>-末端激酶(JNK)是丝裂原活化蛋白(MAP)激酶家族的一员,并且通过MAP激酶级联由多种细胞外刺激物活化。活化的JNK反过来使c-Jun磷酸化并激活c-Jun及其他靶目标<sup>[30]</sup>。c-Jun是转录因子AP-1的一种主要组成成分。JNK活化在介导TNF-R信号输出方面的作用尚存有高度的争议,JNK活化可能促进凋亡,也可能抑制凋亡,亦或二者之间无关<sup>[31]</sup>。然而,有力的证据显示,JNK活化可以增

强TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡<sup>[32-33]</sup>。SP600125是一种特异性JNK抑制剂,他可以抑制线粒体通透性的转变,阻断细胞色素C的释放及caspase-3、-8、-9的活化,均提示JNK作用于线粒体的上游环节。然而,JNK活化如何导致线粒体功能失活目前还不清楚。最近,一项关于Hela细胞的研究表明,JNK活化可以导致一种特殊的jBid的形成,jBid是Bid切割后产生的短片段,他可特异的诱导线粒体释放Smac/Diablo来启动caspase-8活化<sup>[34]</sup>。此种jBid-Smac/Diablo途径是否存在于肝细胞或其他的细胞尚需进一步证实。另一方面,JNK可能通过其他的促凋亡Bcl-2家族蛋白来激活线粒体途径。最近的研究显示,JNK诱导的细胞凋亡需要Bax的参与,在小鼠胚胎细胞中,通过JNK使Bim及Bmf磷酸化有助于Bax的易位及活化<sup>[35]</sup>。然而,此种JNK-Bax途径是否存在于肝细胞中也同样需要证实。鉴于JNK在TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡中的作用,一种小分子的JNK抑制剂可能具有潜在的治疗价值。

**2.5 组织蛋白酶B** 组织蛋白酶B是一种溶酶体半胱氨酸蛋白酶,是参与细胞内蛋白降解的关键酶。组织蛋白酶B首先在溶酶体中经过连续的处理加工过程而合成一种分子量为38 kDa的酶原,经过蛋白水解分裂后,形成一种分子量为30 kDa的活性形式<sup>[36]</sup>。业已证实,无论在体内还是体外,组织蛋白酶B在TNF- $\alpha$ 诱导的肝损伤中均发挥作用。组织蛋白酶B基因敲除小鼠的离体肝细胞对TNF- $\alpha$ /ActD诱导的细胞凋亡具有明显的抵抗作用<sup>[37-38]</sup>。此外,在体外培养的肝细胞中,一种选择性的组织蛋白酶B抑制剂CA-074也可以显著的减轻TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡。进一步证实显示,组织蛋白酶B通过促进细胞色素C释放及caspase活化而激活线粒体凋亡途径。当用离体的小鼠肝线粒体培养纯化的重组体组织蛋白酶B时,只有适量的细胞色素C从线粒体中释放出来,这提示组织蛋白酶B可能并不直接引起线粒体外膜通透性的增加。然而,在胞质溶胶存在的情况下,组织蛋白酶B诱导的细胞色素C释放明显增加,这提示胞质溶胶中可能存在某些不明的蛋白参与了反应<sup>[37]</sup>。因此,此种可以导致线粒体活化的组织蛋白酶B的下游信号尚需进一步证实。

**2.6 鞘磷脂酶、神经酰胺和FAN** 据报道,TNF与TNF-R1相互作用既可使N-SMase活化,也可使A-SMase活化,从而导致鞘磷脂酶的降解及神经酰胺的合成。神经鞘脂类,尤其是神经酰胺被



认为是一种假定的脂质信号介质, 在应激反应及TNF- $\alpha$ 信号系统中发挥作用. TNF- $\alpha$ 触发的N-SMase活化是由接头蛋白FAN介导的. FAN与NSD(TNF-R1位于细胞内的部分)相连接, 在TNF- $\alpha$ 触发后N-SMase介导的细胞内神经酰胺的产生过程中发挥重要作用. FAN在人成纤维细胞中持续的隐性表达可减弱TNF- $\alpha$ 诱导的神经酰胺的产生, 而此过程是通过鞘磷脂酶水解、减轻caspase反应过程和减轻TNF- $\alpha$ 诱导的凋亡而实现的. 然而, 他并不改变TNF- $\alpha$ 诱导的其他效应<sup>[39]</sup>. 此外, 有实验表明FAN基因敲除的小鼠可部分抵抗LPS及TNF- $\alpha$ 诱导的肝损伤<sup>[40]</sup>. 进一步的研究发现, 由LPS诱导的血清IL-6水平升高在FAN基因敲除小鼠中有所降低. 有趣的是, IL-6基因敲除的小鼠对内毒素诱导的肝细胞凋亡及致死作用也具有部分的抵制作用<sup>[40]</sup>. 由此可见, FAN可能参与内毒素触发的暴发性肝炎的发病机制, 并可能通过调节IL-6的分泌而发挥作用. 此外, 转染表达隐性FAN的带菌体也可阻断组织蛋白酶B的释放及caspase-8的激活. 数据显示, 在信号级联反应中, FAN可能作用于caspase-8/Bid的上游区域. 这些发现表明, 在由TNF- $\alpha$ 触发的凋亡反应中, FAN可通过调节神经酰胺的产生、IL-6的分泌、溶酶体组织蛋白酶B途径及线粒体途径而发挥多种作用.

已证实, 神经酰胺可通过直接激活线粒体通透性转变来诱导肝细胞凋亡<sup>[41]</sup>. 以下证据可以说明A-SMase在TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡中的关键作用: (1)Smase基因敲除的小鼠可以抵抗TNF- $\alpha$ 或LPS诱导的肝损伤<sup>[22]</sup>; (2)Smase基因敲除的肝细胞经TNF- $\alpha$ 处理后, 细胞内神经酰胺的水平较野生型肝细胞有明显的下降; (3)神经节苷脂(GD3)是一种含有鞘糖脂的唾液酸, 他已被证实是一种脂质死亡效应器, 可直接影响线粒体通透性转变并诱导线粒体凋亡途径; (4)腺苷甲硫氨酸(SAM)由腺苷三磷酸钴胺素腺苷转移酶(MATs)合成. 敲除肝脏特异性MATIA基因可使SAM衰减发生在前, 而caspase-8和caspase-3活化、大面积的肝损伤及小鼠的死亡发生在后. 经TNF- $\alpha$ 处理后, SMase基因敲除的肝组织可显著抑制MATIA的下调, 从而仅引起微弱的SAM衰减、caspase活化及肝组织损伤<sup>[42]</sup>. 此外, 在SMase基因敲除的肝细胞中, 细胞内衰减的GSH水平与野生型细胞相比维持在相对较高的水平. 因此, ASMase可能通过促进神经酰胺的生成、GD3依赖的线粒功能失活、MATIA的下调及

GSH的衰减来参与TNF- $\alpha$ 诱导的肝衰竭. 研究数据同样表明, SAM可能在急慢性肝病的治疗中发挥作用.

**2.7 NF- $\kappa$ B的活化** TNF- $\alpha$ /TNF-R1信号系统的一个独特特征是同时激活NF- $\kappa$ B途径<sup>[43]</sup>, 此途径可抑制TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡过程<sup>[44]</sup>. TNF受体衔接可引起TRADD募集TRAF2及RIP. TRAF2可能募集IKK复合物、IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$ 及IKK $\gamma$ 并与其连接. 随后RIP活化IKK复合物, 此复合物可使I- $\kappa$ B $\alpha$ 磷酸化并导致其降解. NF- $\kappa$ B P50/P65二聚体从I- $\kappa$ B $\alpha$ 中脱离出来并定位于细胞核, 从而引起新的基因转录. NF- $\kappa$ B抗TNF- $\alpha$ 毒性的作用机制尚未完全清楚. NF- $\kappa$ B的活化可以增加生存基因产物的表达, 包括IAPs(XIAP, cIAP1/2), TRAF1, TRAF2, A20, A1/Bfl, Bcl-xL, IEX-1L, iNOS, c-FLIP, MnSOD及GADD45 $\beta$ <sup>[2]</sup>. 然而, 由NF- $\kappa$ B诱导的此种保护性基因似乎是组织特异性的, 并且在特异的情况下可能只有其中的某些基因参与TNF- $\alpha$ 信号系统. 在肝细胞损伤的范例中, 只对其中的几个保护基因进行过研究, 例如: 已报道一种锌指蛋白A20可对抗TNF- $\alpha$ /GalN而提高小鼠的生存率<sup>[45]</sup>. 在体外, iNOS衍生的氮氧化物同样具有保护作用, 而iNOS缺乏的肝细胞则对TNF- $\alpha$ 更加敏感<sup>[46]</sup>. 最后, 在IAP家族蛋白中, 只有CIAP2的效应在肝细胞中进行过研究, 研究显示, 他可以对抗TNF- $\alpha$ 而具有保护作用<sup>[47]</sup>. 近来, Maeda *et al*<sup>[48]</sup>应用肝细胞特异性的IKK $\beta$ 缺失的小鼠进行研究, 研究显示, 此种小鼠对结合于细胞上的TNF- $\alpha$ (主要由刀豆素A诱导)更加敏感, 而不是循环中的TNF- $\alpha$ (主要由LPS诱导). 有趣的是, IKK $\beta$ 的缺乏可增强ConA诱导的JNK活化. Maeda *et al*<sup>[48]</sup>应用JNK基因敲除的小鼠进一步证实了ConA诱导的肝损害需要JNK的参与. 因此, IKK $\beta$ (或NF- $\kappa$ B活化)的抗凋亡效应主要通过抑制JNK的活化, 而此种抗凋亡效应在与细胞结合的TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡中具有重要的作用. 最后, 其他未知的NF- $\kappa$ B依赖性基因产物也可能抑制TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞毒性而发挥保护作用.

总之, 无论急慢性肝病, 凋亡是肝损伤的一个基本特征. 过去10 a中, 在肝损伤领域的研究有飞快的进展, 尤其是由死亡受体活化诱导的肝损伤. 在肝细胞凋亡中, TNF- $\alpha$ 似乎并非只引起单一的效应, 本文所总结的证据表明, 在TNF- $\alpha$ 诱导的肝细胞凋亡中有多种途径被激活. 直接针对TNF- $\alpha$ 凋亡信号途径的研究也许会为

#### ■应用要点

TNF- $\alpha$ 介导肝细胞凋亡的确切机制目前尚有争议, 但大量研究表明, TNF- $\alpha$ 介导的肝细胞凋亡与多种肝病的发生发展密切相关, 对其进行较为深入的研究, 有可能为探索肝病的发病机制和防治方法开辟新的途径.

### ■名词解释

MPT孔: 线粒体膜通透性转变孔, 主要由位于内膜的腺苷转位因子和位于外膜的电压依赖性阴离子通道等蛋白所组成, PT孔开放会引起线粒体跨膜电位下降和细胞色素C释放。

未来的肝病治疗提供可行的对策。例如: 应用环孢素A(MPT抑制剂)、SP600125(JNK抑制剂)和抗氧化物(MnTBAP或Trolox)等化学物质直接作用于线粒体的活化环节, 也许会如动物模型中显示的那样减轻人类的肝损害。此外, 近来研究显示环氧化酶2(COX-2)可通过激活死亡受体途径及线粒体途径诱导肝癌细胞发生凋亡或坏死, 从而发挥协同抗肿瘤作用<sup>[49]</sup>。

### 3 参考文献

- Ji C, Kaplowitz N. Hyperhomocysteinemia, endoplasmic reticulum stress, and alcoholic liver injury. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1699-1708
- Yin XM, Ding WX. Death receptor activation-induced hepatocyte apoptosis and liver injury. *Curr Mol Med* 2003; 3: 491-508
- Wang Y, Singh R, Lefkowitz JH, Rigoli RM, Czaja MJ. Tumor necrosis factor-induced toxic liver injury results from JNK2-dependent activation of caspase-8 and the mitochondrial death pathway. *J Biol Chem* 2006; 281: 15258-15267
- Muto Y, Nouri-Aria KT, Meager A, Alexander GJ, Eddleston AL, Williams R. Enhanced tumour necrosis factor and interleukin-1 in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1988; 2: 72-74
- Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S, Masson A, De Groote D, Berthelot P, Bach JF, Brechot C, Zavala F. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J Hepatol* 1999; 30: 185-191
- Yin M, Wheeler MD, Kono H, Bradford BU, Gallucci RM, Luster MI, Thurman RG. Essential role of tumor necrosis factor alpha in alcohol-induced liver injury in mice. *Gastroenterology* 1999; 117: 942-952
- Bird GL, Sheron N, Goka AK, Alexander GJ, Williams RS. Increased plasma tumor necrosis factor in severe alcoholic hepatitis. *Ann Intern Med* 1990; 112: 917-920
- Fukui H. Relation of endotoxin, endotoxin binding proteins and macrophages to severe alcoholic liver injury and multiple organ failure. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 172S-179S
- Grove J, Daly AK, Bassendine MF, Day CP. Association of a tumor necrosis factor promoter polymorphism with susceptibility to alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1997; 26: 143-146
- Yang YL, Li JP, Xu XP, Dou KF, Yue SQ, Li KZ. Protective effects of tumor necrosis factor alpha antibody and ulinastatin on liver ischemic reperfusion in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3161-3164
- Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell* 2003; 114: 181-190
- Ding WX, Ni HM, DiFrancesca D, Stolz DB, Yin XM. Bid-dependent generation of oxygen radicals promotes death receptor activation-induced apoptosis in murine hepatocytes. *Hepatology* 2004; 40: 403-413
- Kim TH, Zhao Y, Ding WX, Shin JN, He X, Seo YW, Chen J, Rabinowich H, Amoscato AA, Yin XM. Bid-cardiolipin interaction at mitochondrial contact site contributes to mitochondrial cristae reorganization and cytochrome C release. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 3061-3072
- Bradham CA, Qian T, Streetz K, Trautwein C, Brenner DA, Lemasters JJ. The mitochondrial permeability transition is required for tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis and cytochrome c release. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 6353-6364
- Zhao Y, Ding WX, Qian T, Watkins S, Lemasters JJ, Yin XM. Bid activates multiple mitochondrial apoptotic mechanisms in primary hepatocytes after death receptor engagement. *Gastroenterology* 2003; 125: 854-867
- Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 177-196
- Jiang X, Wang X. Cytochrome c promotes caspase-9 activation by inducing nucleotide binding to Apaf-1. *J Biol Chem* 2000; 275: 31199-31203
- Li S, Zhao Y, He X, Kim TH, Kuharsky DK, Rabinowich H, Chen J, Du C, Yin XM. Relief of extrinsic pathway inhibition by the Bid-dependent mitochondrial release of Smac in Fas-mediated hepatocyte apoptosis. *J Biol Chem* 2002; 277: 26912-26920
- Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000; 102: 33-42
- Zhao Y, Li S, Childs EE, Kuharsky DK, Yin XM. Activation of pro-death Bcl-2 family proteins and mitochondria apoptosis pathway in tumor necrosis factor-alpha-induced liver injury. *J Biol Chem* 2001; 276: 27432-27440
- Wei MC, Zong WX, Cheng EH, Lindsten T, Panoutsakopoulou V, Ross AJ, Roth KA, MacGregor GR, Thompson CB, Korsmeyer SJ. Proapoptotic BAX and BAK: a requisite gateway to mitochondrial dysfunction and death. *Science* 2001; 292: 727-730
- Garcia-Ruiz C, Colell A, Mari M, Morales A, Calvo M, Enrich C, Fernandez-Checa JC. Defective TNF-alpha-mediated hepatocellular apoptosis and liver damage in acidic sphingomyelinase knockout mice. *J Clin Invest* 2003; 111: 197-208
- Nechushtan A, Smith CL, Hsu YT, Youle RJ. Conformation of the Bax C-terminus regulates subcellular location and cell death. *EMBO J* 1999; 18: 2330-2341
- Nagai H, Matsumaru K, Feng G, Kaplowitz N. Reduced glutathione depletion causes necrosis and sensitization to tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in cultured mouse hepatocytes. *Hepatology* 2002; 36: 55-64
- Matsumaru K, Ji C, Kaplowitz N. Mechanisms for sensitization to TNF-induced apoptosis by acute glutathione depletion in murine hepatocytes. *Hepatology* 2003; 37: 1425-1434
- Okuyama H, Nakamura H, Shimahara Y, Araya S, Kawada N, Yamaoka Y, Yodoi J. Overexpression of thioredoxin prevents acute hepatitis caused by thioacetamide or lipopolysaccharide in mice.

- Hepatology* 2003; 37: 1015-1025
- 27 Hockenbery DM, Oltvai ZN, Yin XM, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. *Cell* 1993; 75: 241-251
  - 28 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
  - 29 Xiang J, Chao DT, Korsmeyer SJ. BAX-induced cell death may not require interleukin 1 beta-converting enzyme-like proteases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14559-14563
  - 30 Liedtke C, Trautwein C. The role of JNK2 in toxic liver injury. *J Hepatol* 2006; 45: 762-764
  - 31 Liu ZG. Adding facets to TNF signaling. The JNK angle. *Mol Cell* 2003; 12: 795-796
  - 32 Liu H, Lo CR, Czaja MJ. NF-kappaB inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun. *Hepatology* 2002; 35: 772-778
  - 33 Schwabe RF, Uchinami H, Qian T, Bennett BL, Lemasters JJ, Brenner DA. Differential requirement for c-Jun NH2-terminal kinase in TNFalpha- and Fas-mediated apoptosis in hepatocytes. *FASEB J* 2004; 18: 720-722
  - 34 Deng Y, Ren X, Yang L, Lin Y, Wu X. A JNK-dependent pathway is required for TNFalpha-induced apoptosis. *Cell* 2003; 115: 61-70
  - 35 Lei K, Nimnual A, Zong WX, Kennedy NJ, Flavell RA, Thompson CB, Bar-Sagi D, Davis RJ. The Bax subfamily of Bcl2-related proteins is essential for apoptotic signal transduction by c-Jun NH(2)-terminal kinase. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 4929-4942
  - 36 Rowan AD, Mason P, Mach L, Mort JS. Rat procathepsin B. Proteolytic processing to the mature form *in vitro*. *J Biol Chem* 1992; 267: 15993-15999
  - 37 Guicciardi ME, Deussing J, Miyoshi H, Bronk SF, Svingen PA, Peters C, Kaufmann SH, Gores GJ. Cathepsin B contributes to TNF-alpha-mediated hepatocyte apoptosis by promoting mitochondrial release of cytochrome c. *J Clin Invest* 2000; 106: 1127-1137
  - 38 Guicciardi ME, Miyoshi H, Bronk SF, Gores GJ. Cathepsin B knockout mice are resistant to tumor necrosis factor-alpha-mediated hepatocyte apoptosis and liver injury: implications for therapeutic applications. *Am J Pathol* 2001; 159: 2045-2054
  - 39 Segui B, Cuvillier O, Adam-Klages S, Garcia V, Malagarie-Cazenave S, Leveque S, Caspar-Bauguil S, Coudert J, Salvayre R, Kronke M, Levade T. Involvement of FAN in TNF-induced apoptosis. *J Clin Invest* 2001; 108: 143-151
  - 40 Malagarie-Cazenave S, Segui B, Leveque S, Garcia V, Carpentier S, Altie MF, Bouchet A, Gouaze V, Andrieu-Abadie N, Barreira Y, Benoist H, Levade T. Role of FAN in tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide-induced interleukin-6 secretion and lethality in D-galactosamine-sensitized mice. *J Biol Chem* 2004; 279: 18648-18655
  - 41 Arora AS, Jones BJ, Patel TC, Bronk SF, Gores GJ. Ceramide induces hepatocyte cell death through disruption of mitochondrial function in the rat. *Hepatology* 1997; 25: 958-963
  - 42 Mari M, Colell A, Morales A, Paneda C, Varela-Nieto I, Garcia-Ruiz C, Fernandez-Checa JC. Acidic sphingomyelinase downregulates the liver-specific methionine adenosyltransferase 1A, contributing to tumor necrosis factor-induced lethal hepatitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 895-904
  - 43 Zhou BR, Gumenscheimer M, Freudenberg MA, Galanos C. Lethal effect and apoptotic DNA fragmentation in response of D-GalN-treated mice to bacterial LPS can be suppressed by pre-exposure to minute amount of bacterial LPS: dual role of TNF receptor 1. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3398-3404
  - 44 Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka T, Miyashita K, Inoue T, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Enokimura N, Yamamoto N, Itou K, Sugimoto K, Nakano T. Augmentation of tumor necrosis factor family-induced apoptosis by E3330 in human hepatocellular carcinoma cell lines via inhibition of NF kappa B. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6258-6261
  - 45 Arvelo MB, Cooper JT, Longo C, Daniel S, Grey ST, Mahiou J, Czismadia E, Abu-Jawdeh G, Ferran C. A20 protects mice from D-galactosamine/lipopolysaccharide acute toxic lethal hepatitis. *Hepatology* 2002; 35: 535-543
  - 46 Hatano E, Bennett BL, Manning AM, Qian T, Lemasters JJ, Brenner DA. NF-kappaB stimulates inducible nitric oxide synthase to protect mouse hepatocytes from TNF-alpha- and Fas-mediated apoptosis. *Gastroenterology* 2001; 120: 1251-1262
  - 47 Kunstle G, Leist M, Uhlig S, Revesz L, Feifel R, MacKenzie A, Wendel A. ICE-protease inhibitors block murine liver injury and apoptosis caused by CD95 or by TNF-alpha. *Immunol Lett* 1997; 55: 5-10
  - 48 Maeda S, Chang L, Li ZW, Luo JL, Leffert H, Karin M. IKKbeta is required for prevention of apoptosis mediated by cell-bound but not by circulating TNFalpha. *Immunity* 2003; 19: 725-737
  - 49 Kern MA, Haugg AM, Koch AF, Schilling T, Breuhahn K, Walczak H, Fleischer B, Trautwein C, Michalski C, Schulze-Bergkamen H, Friess H, Stremmel W, Krammer PH, Schirmacher P, Muller M. Cyclooxygenase-2 inhibition induces apoptosis signaling via death receptors and mitochondria in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2006; 66: 7059-7066

#### 同行评价

本文对TNF- $\alpha$ 在细胞凋亡过程中发挥多种效应的机制进行了探讨,总结了最新的研究进展,有一定的学术价值,文笔流畅、思路清晰、主题突出,是一篇不错的综述。

电编 李琪 编辑 张焕兰