

# 急性胰腺炎细胞凋亡机制研究进展

石星亮, 陈 垦, 王 晖, 龙友明

## ■背景资料

近年人们发现细胞凋亡在急性胰腺炎的发生发展过程中起重要作用, 他参与了急性胰腺炎的组织损伤, 但同时也是机体其中一种重要的自身保护机制。

石星亮, 陈垦, 龙友明, 广东药学院临床医学院内科学教研室 广东省广州市 510310

王晖, 广东药学院中药学院药理学教研室 广东省广州市 510006

广东省科学事业计划基金资助项目, No. 2007B030702004

广州市科学技术基金资助项目, No. 2007Z3-E5011

广东省自然科学基金资助项目, No. 8151022401000012

作者贡献分布: 本论文写作由石星亮综述; 由陈垦, 王晖及龙友明审校。

通讯作者: 陈垦, 510310, 广东省广州市, 广东药学院临床医学院内科学教研室. chenkenck@126.com

电话: 020-34055856

收稿日期: 2008-12-29 修回日期: 2009-01-15

接受日期: 2009-02-09 在线出版日期: 2009-02-28

## Advance in acute pancreatitis apoptosis mechanisms

Xing-Liang Shi, Ken Chen, Hui Wang, You-Ming Long

Xing-Liang Shi, Ken Chen, You-Ming Long, Internal Medicine Teaching and Research Section, Clinical Medicine College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Hui Wang, Pharmacology Teaching and Research Section, Traditional Chinese Medicine College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong Province, China

Supported by: the Science Planned Project of Guangdong, No. 2007B030702004; the Science and Technology Projects of Guangzhou, No. 2007Z3-E5011; and the Natural Science Fund Project of Guangdong Province, No. 8151022401000012

Correspondence to: Professor Ken Chen, Internal Medicine Teaching and Research Section, Clinical Medicine College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com

Received: 2008-12-29 Revised: 2009-01-15

Accepted: 2009-02-09 Published online: 2009-02-28

## Abstract

Acute pancreatitis (AP) is a common critical illness in clinic. Its pathogenesis is complex. Previous studies concentrated on inflammatory factors, oxidative stress, microcirculation disturbance, etc. Recently, apoptosis has been found to play an important role in emergence and development of acute pancreatitis. Apoptosis is involved in tissue injury in acute pancreatitis, but is also an important self-protection mechanism. This review briefed the relation between apoptosis and acute pancreatitis, investigated the influence of apoptosis on acute pancreatitis organ damage,

and analyzed the relation between apoptosis and inflammatory cytokines, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, Notch factor, aiming at revealing the mechanism of apoptosis in acute pancreatitis.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Apoptosis; Mechanism; Inflammatory factor; Oxidative stress; Reticulum stress

Shi XL, Chen K, Wang H, Long YM. Advance in acute pancreatitis apoptosis mechanisms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(6): 594-597

## 摘要

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的危重疾病。该病的发病机制复杂, 以往研究多集中在炎症因子、氧化应激、微循环障碍等方面。近年人们发现细胞凋亡在急性胰腺炎的发生发展过程中起重要作用, 他参与了急性胰腺炎的组织损伤, 但同时也是机体其中一种重要的自身保护机制。本文简述细胞凋亡与急性胰腺炎之间的关系, 探讨细胞凋亡对急性胰腺炎器官损伤的影响, 分析细胞凋亡与炎症因子、氧化应激、内质网应激、Notch因子的关系, 从而揭示急性胰腺炎细胞凋亡的发生机制。

**关键词:** 急性胰腺炎; 细胞凋亡; 机制; 炎症因子; 氧化应激; 内质网应激

石星亮, 陈垦, 王晖, 龙友明. 急性胰腺炎细胞凋亡机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(6): 594-597

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/594.asp>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床上常见的危重疾病。虽然大部分为轻型患者(mild acute pancreatitis, MAP), 但是仍有大约25%的患者为重型(severe acute pancreatitis, SAP), 临床经过凶险, 常常并发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能不全综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。该病的发病机制复杂, 以往

## ■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科; 崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

研究多集中在炎症因子、氧化应激、微循环障碍等方面. 近年人们发现细胞凋亡在急性胰腺炎的发生发展过程中起重要作用, 他参与了急性胰腺炎的组织损伤, 但同时也是机体其中一种重要的自身保护机制.

## 1 细胞凋亡与肠道损伤

目前人们对于SAP中肠黏膜上皮细胞凋亡是否对病情进展有利还存在争议. Yasuda *et al*<sup>[1]</sup>逆行胰胆管注射30 g/L去氧胆酸钠建立大鼠SAP模型, 同时腹腔内注射Caspase抑制剂(Z-VAD-fmk), 结果发现SAP组Caspase-10、-9和-3于模型建立后2 h后增加, 回肠细胞凋亡与渗透性于诱导SAP 6 h后显著增加. 而应用Caspase抑制剂能明显改善回肠细胞凋亡与渗透性, 改善了模型动物24 h死亡率. 估计Caspase的激活在AP肠黏膜细胞凋亡中起重要作用, 肠黏膜细胞凋亡能减弱肠黏膜屏障, 导致内毒素易位加重AP病情. 而在另外一个实验中, Zhang *et al*<sup>[2]</sup>逆行胰胆管注射35 g/L牛磺胆酸钠建立大鼠SAP模型, 然后给予地塞米松治疗干预, 结果发现血浆内毒素、炎症介质、回肠黏膜上皮核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)蛋白表达与病理评分较SAP组明显改善, Caspase-3蛋白表达和凋亡指数明显超过模型组. 于是他们得出结论: 地塞米松可以减低内毒素水平、炎症介质并下调回肠黏膜上皮NF- $\kappa$ B蛋白表达, 诱导回肠黏膜上皮细胞凋亡, 从而减轻组织损伤. 随后Zhang *et al*<sup>[3]</sup>又发现, 地塞米松可以使AP大鼠肠系膜淋巴结的Bax蛋白表达和凋亡指数增加, 减少炎症介质的产生, 起保护作用. 在AP中, 回肠黏膜上皮细胞凋亡是机体的损伤机制还是保护机制, 还有待进一步的研究.

## 2 急性胰腺炎细胞凋亡机制

**2.1 细胞凋亡与炎症因子** AP中的细胞凋亡与细胞因子的激活密切相关. Malleo *et al*<sup>[4]</sup>发现在TNF- $\alpha$ 基因敲除或应用TNF- $\alpha$ 抑制剂后, 小鼠AP模型的促凋亡基因Bax和FasL的表达明显减少, 而抗凋亡基因***bcl-2***仍然处于高水平. 这表明了细胞因子的变化可以影响细胞凋亡. 目前研究<sup>[5-8]</sup>发现越来越多治疗AP的药物, 例如青蒿素、白藜芦醇、松弛素、糖皮质激素等, 都是通过降低炎症因子的水平来促进细胞凋亡, 减少组织坏死损伤. 另一方面, AP中的细胞凋亡也会影响细胞因子的表达, 影响疾病的发生发

展. Dang *et al*<sup>[9]</sup>在对大鼠ANP肠黏膜损伤的研究中发现, ANP大鼠血清中的IL-2、IL-10、IL-2/IL-10明显较对照组增高, 免疫组化结果显示肠黏膜Fas的表达在模型诱导后逐步增加并于12 h达到顶峰. IL-10是一种重要的抗炎因子, 由Th2细胞分泌, 炎症因子IL-2由Th1分泌, 正常情况下IL-2/IL-10保持着一定比例的平衡. 因此推测在AP中, Fas介导了Th细胞的凋亡, 影响了Th细胞对细胞因子的分泌, 使IL-2/IL-10急剧改变, 最终使肠黏膜造成炎症损伤. 另外还有研究显示<sup>[10]</sup>地塞米松是通过促进免疫器官胸腺凋亡, 从而减轻AP体内炎症因子的水平, 减少机体的损伤. 近年随着研究的深入发现核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)在AP中起着重要的作用, 他能调控多种炎症因子的表达, 同时也是细胞生存的重要信号转录因子. Peng *et al*<sup>[11]</sup>体外培养大鼠Kupffer细胞并利用弹性蛋白酶模拟AP的发生, 接着使用AdIkB来阻断NF- $\kappa$ B的激活, 观察TNF、Fas/FasL、Caspase-3等指标. 结果发现NF- $\kappa$ B阻断后, 减低了AP中Fas/FasL的上调和Caspase-3的断裂, 从而减轻了细胞凋亡. 随后Peng *et al*<sup>[12]</sup>继续深入研究发现NF- $\kappa$ B的激活与各种激酶有关, 其中蛋白激酶C- $\zeta$ (PKC- $\zeta$ )是NF- $\kappa$ B激活信号通路TNF- $\alpha$ /IL-1- $\beta$ 的重要成分. 他们用雨蛙素建立大鼠AP模型, 检测发现PKC- $\zeta$ 活性、IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$ 、IKK $\gamma$ 、NF- $\kappa$ B、Fas/FasL、Caspase-3和DNA断裂增加. 另外提取未经处理的大鼠的肝Kupffer细胞, 在体外利用PKC- $\zeta$ 负域腺病毒(AdPKC $\zeta$ -DN)抑制PKC- $\zeta$ , 或者转染PKC- $\zeta$ 细胞巨化病毒质粒(pCMVPKC- $\zeta$ )来过度表达PKC- $\zeta$ , 并用胰弹性蛋白酶刺激PKC- $\zeta$ 的产生. 观察发现AdPKC $\zeta$ -DN能取消胰弹性蛋白酶对PKC- $\zeta$ 活性、IKK $\beta$ 、IKK $\gamma$ 、NF- $\kappa$ B、Fas/FasL、Caspase-3和DNA断裂的上调作用, 而PKC- $\zeta$ 的过度表达能增加IKK $\beta$ 、IKK $\gamma$ 、Fas/FasL、Caspase-3和DNA断裂. 因此推断PKC- $\zeta$ 通过激活NF- $\kappa$ B在AP肝Kupffer细胞凋亡中起重要作用. 之后的研究<sup>[13]</sup>又发现Toll样受体4(TLR4)在AP中Kupffer细胞活化中起重要作用, 于是Peng *et al*利用C57/BL6(TLR4+/+和TLR4-/-)小鼠建立AP模型. 实验显示TLR4+/+AP小鼠的TLR4蛋白和mRNA与PKC- $\zeta$ 蛋白和活性、NF- $\kappa$ B、Caspase-3明显升高, 而TLR4-/-AP小鼠明显降低. 因此表明TLR4在AP肝Kupffer细胞凋亡中起重要作用. TLR4、PKC- $\zeta$ 、NF- $\kappa$ B之间复杂的互相作用可能是AP细胞凋亡的重要机制.

### ■ 研发前沿

目前人们对于SAP中肠黏膜上皮细胞凋亡是否对病情进展有利还存在争议.

## ■相关报道

Zhang *et al*发现,地塞米松可以使AP大鼠肠系膜淋巴结的Bax蛋白表达和凋亡指数增加,减少炎症介质的产生,起保护作用。

近年研究又发现丛生蛋白对胰腺的外分泌起抗凋亡和抗炎的功能。他特别对NF- $\kappa$ B活化起重要作用,并且可能是NF- $\kappa$ B活化的部分反馈机制之一。Savković *et al*<sup>[14]</sup>体外转染高表达水平丛生蛋白基因,得到丛生蛋白过度表达的AR4-2J细胞,然后使用雨蛙素、过氧化氢、十字孢碱和溶血磷脂胆碱模拟急性胰腺炎。结果显示过度表达的丛生蛋白可以减少细胞凋亡和Caspase-3的激活,而阻断内源性丛生蛋白的表达就会增强凋亡。丛生蛋白的存在可以减少NF- $\kappa$ B的激活和由NF- $\kappa$ B激活产生的TNF- $\alpha$ 。另外在丛生蛋白基因缺失小鼠中也表现出更加严重的细胞凋亡和细胞炎症浸润。

**2.2 细胞凋亡与氧化应激** 研究显示<sup>[15]</sup>AP时氧化应激可通过氧化还原途径来调节细胞凋亡。氧化剂通过氧化还原途径失去一个电子而产生活性氧簇(ROS),ROS可导致胰腺腺泡细胞死亡。而通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)失去两个电子就有解毒的作用。实验中比较甲苯醌和不参加氧化还原的类似物[2, 4-甲氧基-2-甲基萘(DMN)]诱导氧自由基产生和导致细胞死亡的作用。观察发现甲苯醌可以通过氧化还原产生ROS并减少NADPH。用抗氧化剂N-乙酰-L-半胱氨酸可以预防ROS的增高。而应用DMN则没有产生反应性氧自由基。结果表明AP中通过氧化还原途径产生大量的ROS,从而诱导胰腺细胞凋亡。另外有实验显示<sup>[16]</sup>给予强抗氧化剂褪黑激素可以通过降低氧化应激水平从而减轻AP中肝组织的细胞凋亡损伤。

NADPH氧化酶被认为是细胞中一种主要的ROS,与AP中氧化应激所致细胞凋亡紧密相关。实验证明<sup>[17]</sup>雨蛙素所致AP模型中,胰腺腺泡细胞上NADPH氧化酶的亚单位Nox1、p27<sup>phox</sup>、p47<sup>phox</sup>和p67<sup>phox</sup>被激活产生氧自由基导致细胞凋亡。而给予NADPH氧化酶抑制剂二亚苯基碘鎓后,胰腺腺泡细胞的凋亡诱导因子、Caspase-3、DNA断裂、TUNEL染色、细胞活力等指标均降低。表明NADPH氧化酶激活后是通过Caspase途径诱导细胞凋亡的发生。

**2.3 细胞凋亡与内质网应激** 近年有研究表明<sup>[18]</sup>内质网(ER)应激反应可以通过细胞凋亡途径导致AP中的细胞损伤。Procaspase-12是存在于内质网的一种前凋亡分子。在AP早期ER应激发生,使Procaspase-12裂解后激活下游效应分子Caspase-3,导致细胞凋亡发生。在L-Arg诱导的AP大鼠模型中,ER应激相关分子转录因子C/EBP

同源蛋白(CHOP,也称作生长抑制和DNA损伤诱导基因)表达增多,Caspase-12和caspase-3也增高,胰腺腺泡凋亡指数亦上升。最初考虑CHOP也可能参与了内质网应激中的细胞凋亡通路,但在之后的研究证实<sup>[19]</sup>,CHOP基因是通过激活与炎症相关的Caspase(Caspase-11、Caspase-1)和IL-1 $\beta$ 加重AP,而非细胞凋亡相关的Caspase。因此内质网应激导致细胞凋亡的具体机制还有待进一步的研究。

**2.4 细胞凋亡与Notch** Notch是一种控制细胞生长的信号转导通路,与组织炎症损伤和修复过程有关。研究显示<sup>[20]</sup>Notch的表达也与AP中胰腺细胞凋亡密切相关。在MAP和SAP大鼠模型中Notch表达均明显升高,且SAP组较MAP组更高。而MAP组和SAP组胰腺凋亡指数均升高,但SAP组于模型建立后4 h达顶峰并随之回落。由此推断Notch通过抑制胰腺细胞凋亡从而加重了AP。

### 3 结论

AP的发生发展与细胞凋亡密切相关,细胞凋亡可导致急性胰腺炎器官损伤,但他也是机体早期限制疾病进展的一种重要的自身保护机制。细胞凋亡与炎症因子、氧自由基、内质网应激和Notch等因素相互作用,相互影响,形成一个复杂的网络调节系统,针对其中关键环节进行干预,可达到治疗急性胰腺炎的目的。

### 4 参考文献

- 1 Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Kishi S, Sawa H, Nakajima T, Kuroda Y. Protective effect of caspase inhibitor on intestinal integrity in experimental severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2007; 138: 300-307
- 2 Zhang X, Chen L, Luo L, Tian H, Feng G, Cai Y, Xu R, Wang K, Wang Z. Study of the protective effects of dexamethasone on ileum mucosa injury in rats with severe acute pancreatitis. *Pancreas* 2008; 37: e74-e82
- 3 Zhang XP, Xu HM, Jiang YY, Yu S, Cai Y, Lu B, Xie Q, Ju TF. Influence of dexamethasone on mesenteric lymph node of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3511-3517
- 4 Malleo G, Mazzon E, Genovese T, Di Paola R, Muià C, Centorrino T, Siriwardena AK, Cuzzocrea S. Etanercept attenuates the development of cerulein-induced acute pancreatitis in mice: a comparison with TNF-alpha genetic deletion. *Shock* 2007; 27: 542-551
- 5 Zhao M, Xue DB, Zheng B, Zhang WH, Pan SH, Sun B. Induction of apoptosis by artemisinin relieving the severity of inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5612-5617
- 6 Sha H, Ma Q, Jha RK, Xu F, Wang L, Wang Z, Zhao Y, Fan F. Resveratrol ameliorates hepatic injury via the mitochondrial pathway in rats with severe acute



- pancreatitis. *Eur J Pharmacol* 2008; 601: 136-142
- 7 Cosen-Binker LI, Binker MG, Cosen R, Negri G, Tiscornia O. Relaxin prevents the development of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1558-1568
- 8 Zhang XP, Chen L, Hu QF, Tian H, Xu RJ, Wang ZW, Wang KY, Cheng QH, Yan W, Li Y, Li QY, He Q, Wang F. Effects of large dose of dexamethasone on inflammatory mediators and pancreatic cell apoptosis of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5506-5511
- 9 Dang SC, Zhang JX, Qu JG, Mao ZF, Wang XQ, Zhu B. Dynamic changes of IL-2/IL-10, sFas and expression of Fas in intestinal mucosa in rats with acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2246-2250
- 10 Xiping Z, Li C, Miao L, Hua T. Protecting effects of dexamethasone on thymus of rats with severe acute pancreatitis. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 72361
- 11 Peng Y, Gallagher SF, Haines K, Baksh K, Murr MM. Nuclear factor-kappaB mediates Kupffer cell apoptosis through transcriptional activation of Fas/FasL. *J Surg Res* 2006; 130: 58-65
- 12 Peng Y, Sigua CA, Gallagher SF, Murr MM. Protein kinase C-zeta is critical in pancreatitis-induced apoptosis of Kupffer cells. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1253-1261
- 13 Peng Y, Sigua CA, Rideout D, Murr MM. Deletion of toll-like receptor-4 downregulates protein kinase C-zeta and attenuates liver injury in experimental pancreatitis. *Surgery* 2008; 143: 679-685
- 14 Savković V, Gantzer H, Reiser U, Selig L, Gaiser S, Sack U, Klöppel G, Mössner J, Keim V, Horn F, Bödeker H. Clusterin is protective in pancreatitis through anti-apoptotic and anti-inflammatory properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 431-437
- 15 Criddle DN, Gillies S, Baumgartner-Wilson HK, Jaffar M, Chinje EC, Passmore S, Chvanov M, Barrow S, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Sutton R, Petersen OH. Menadione-induced reactive oxygen species generation via redox cycling promotes apoptosis of murine pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 2006; 281: 40485-40492
- 16 Muñoz-Casares FC, Padillo FJ, Briceño J, Collado JA, Muñoz-Castañeda JR, Ortega R, Cruz A, Túnez I, Montilla P, Pera C, Muntané J. Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *J Pineal Res* 2006; 40: 195-203
- 17 Yu JH, Kim KH, Kim DG, Kim H. Diphenyleneiodonium suppresses apoptosis in cerulein-stimulated pancreatic acinar cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 2063-2075
- 18 Kubisch CH, Sans MD, Arumugam T, Ernst SA, Williams JA, Logsdon CD. Early activation of endoplasmic reticulum stress is associated with arginine-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G238-G245
- 19 Suyama K, Ohmuraya M, Hirota M, Ozaki N, Ida S, Endo M, Araki K, Gotoh T, Baba H, Yamamura K. C/EBP homologous protein is crucial for the acceleration of experimental pancreatitis. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 367: 176-182
- 20 Zhang W, Wang C, Yang M, Wan C. Relationship between the apoptosis and notch-1 expression in acute pancreatitis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2007; 27: 48-50

#### ■同行评价

本文选题新颖, 参考文献丰富, 具有一定的科学性和可读性。

编辑 史景红 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 世界华人消化杂志标点符号用法

**本刊讯** 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末。标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU。外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体。(常务副总编辑: 张海宁 2009-02-28)