

·综述·

NF-KB 在 SIRS 中的枢纽作用

周建大, 罗成群

全身性炎症反应综合症 (Systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 指的是由感染、烧伤、创伤、手术、胰腺炎以及缺血一再灌注等多种因素引起的一种全身性炎症反应^[1]。当刺激因素作用于机体, 除激活炎性细胞外, 尚可诱导多种蛋白和脂类介质释放, 促进细胞表面受体和粘附分子表达, 引起多种蛋白酶和急性期蛋白的产生。所有这些因素共同作用, 造成机体组织、器官损害, 如不能及时有效控制, 可发展为 MODS、ARDS 乃至死亡。从 SIRS 发展至 MODS 的突出特征出现是活化的中性白细胞炎症反应加剧导致全身性器官进一步损害的结局。SIRS 本是机体对各种创伤、感染的正常生理性防御反应, 但过度或失控的炎症反应往往导致中性白细胞介导组织损伤和器官功能不全。了解调控中性白细胞炎症反应的分子机理, 有助于人们寻找一些既能防止组织损伤又对机体免疫功能具有保护作用的特殊方法。

在 SIRS 中, 中性白细胞炎症反应首先表现为大量细胞因子、化学因子、内皮性白细胞粘附分子以及各种酶类, 如诱导型 NO 合成酶 (iNOS)、环氧化酶 (COX-2) 的产生, 而它们的生成均是被核转录因子 kB (Nuclear factor-kB, NF-kB) 所调控, NF-kB 是一种 DNA 结合蛋白, 其分子生物学特性及在细胞因子和其他促炎介质分子生成过程中的枢纽性调控作用。

一、NF-kB/IkB 的生物学特性

NF-kB 是 Rel 蛋白家族成员, 哺乳动物共有 5 种 NF-kB/Rel 蛋白。NF-kB₁ (P₅₀) 和 NF-kB₂ (P₅₂) 由前体蛋白 P₁₀₅ 和 P₁₀₀ 水解产生 (P₁₀₅ 和 P₁₀₀ 还分别产生 IkB γ 和 IkB δ), 而 RelA、RelB 和 c-Rel 并非由前体蛋白产生。所有这些蛋白都有一个约由 300 个氨基酸组成的氨基末端, 称 Rel 同源区 RHD (Relhomology domain) 或 NRD (NF-kB/Rel/Dorsal), 其中包括有 DNA 结合部位、二聚体化部位及 IkB 结合位点 NLS (Nuclear translocation signal)。有活性的 DNA 结合的 NF-kB 是一个二聚体。标准的 NF-kB (P₅₀ 和 P₆₅ 二聚

体) 结合的序列为 5'GGGRNNYYCC3' 而 RelA/cRel 二聚体的结合序列为 5'HGGARNYYCC3' (其中 H 代表 A、C 或 T, R 为嘌呤, Y 为嘧啶)。Rel 蛋白成员间可形成同源或异源二聚体, 不同的 NF-kB/Rel 蛋白二聚体具有不同的结合序列, 而且各有特性, 不同二聚体可识别细微不同的 DNA 靶目标, 从而使 NF-kB 亚单位对不同调节基因的表达能力得以提高。绝大多数 NF-kB 蛋白是转录激活的复合体, 但 P₅₀ 和 P₅₂ 的同源二聚体则是转录抑制的复合体。

IkB 为 NF-kB 抑制蛋白, 在哺乳动物中已克隆出 5 种, 分别为 IkB α 、IkB β 、P₁₀₅/IkB γ 、P₁₀₀/IkB δ 和 IkB ϵ , 这些抑制蛋白都含有 3~7 个由 30~33 个氨基酸组成的同源序列, 称为锚蛋白重复序列区别, 可与 NF-kB 的 NLS 结合, 从而阻止 NF-kB 向核内转运, 不能发挥转录作用^[2,3]。在胞浆中, NF-kB 与 IkB 结合而以非活性异寡聚体的形式存在, 即结构型 NF-kB。目前发现两种 Rel 蛋白复合物, 一种为 Rel 同源或异源二聚体 (如 P₅₀ 和 P₆₅) 与 IkB 家族成员 (IkB β 、IkB γ 和 IkB ϵ) 结合; 另一种为成熟的 Rel 与一未加工过 Rel 蛋白前体 (如 P₁₀₅) 结合成异源二聚体^[4]。最普遍的组成可能是 P₅₀、RelA 和 IkB 按 1:1:1 组合的三聚体, 其中 RelA 不可缺少。而诱导型 NF-kB 指的是活化后与 IkB 脱离进入胞核内, 能与 DNA 结合发挥转录作用的形式。NF-kB 的激活过程如下: ①IkB 的磷酸化, 首先 IkB 在酪蛋白激酶 II 的作用下磷酸化其 C 末端富含脯 AA、谷 AA、丝 AA、苏 AA 的结构域 (PEST 结构域), 然后对 IkB α N 端第 32 和 36 位的丝 AA 进行磷酸化 (IkB β 为 19、23 位丝 AA); ②IkB β N 端第 21 和 22 位赖 AA 与多个泛素分子共价结合; ③与泛素分子结合的 IkB 发生构象改变被多催化性 ATP 依赖性 26S 的蛋白酶识别并降解, NF-kB 游离并移入核内^[5]。NF-kB 在核内单独或与其它转录因子和辅助因子 (如 AP-1) 形成更为高级的增强子复合物, 与所诱导基因增强子序列的 kB 共有序列结合, 导致迅速转录和蛋白合成。同时 NF-kB 也可以诱导 IkB

的合成,达到反馈调节 NF- κ B 活化的作用^[6]。调控完成后,NF- κ B 在核内与新合成的 I κ B 结合再出核进入胞浆。

二、NF- κ B 与炎症介质

SIRS 时,机体产生多种细胞因子和炎症介质。其中内毒素/脂多糖(LPS)是主要诱导因素,它与宿主免疫系统相互作用后激发细胞因子的分泌。在细胞因子中,TNF- α 可能起核心作用,诱发 IL-1、IL-6、IL-8 以及继发性炎症介质的产生,因此激发炎症连锁反应^[7]。众多细胞因子相互作用形成“网络”,有的起上调作用,有的起下调作用,导致所谓的“瀑布效应”,加重细胞的损伤^[8]。炎症反应一经启动,就难以控制。而 NF- κ B 广泛存在于机体各种细胞的胞浆中,是许多促炎细胞因子、炎症介质、粘附分子和急性期反应蛋白高表达所必需的转录因子,被认为在急性炎症发生、发展中起着相当重要的调控作用^[9]。首先,NF- κ B 经内毒素、TNF- α 、IL-1 β 、缺血一再灌注损伤(I/R)、氧自由基(ROS)以及严重创伤等因素激活,进入核内,调控众多炎症介质的基因表达,尤其是 TNF- α 、IL-1 等原发性介质的增加,进一步作用于巨噬细胞等产生大量的继发性细胞因子和介质,如 IL-6、IL-8 等。NF- κ B 就是这样通过影响细胞因子和介质的基因转录而对细胞因子网络产生广泛作用。这些因子包括肿瘤坏死因子(TNF)、集落刺激因子(CSF)、白细胞介素(IL-S)、干扰素(IFN)、化学因子、粘附分子及酶类。反过来,促炎介质也进一步激活 NF- κ B(其中 TNF- α 、IL-1 β 通过受体介导途径激活 NF- κ B)形成正反馈的级联放大效应。同时,Ledebur 和 Shu 等分别发现 NF- κ B 与人内皮细胞粘附分子 ICAM-1、VCAM-1 的基因表达密切相关,进一步加速炎症反应的发展和放大^[10,11]。NF- κ B 活化后还可诱导急性期反应蛋白如 C₃、C₄、血清淀粉蛋白以及 iNOS 和 COX-2 等炎性酶的产生。就是这许多种炎症介质相互影响,相互作用,导致凝血-纤溶、激肽、补体和花生四烯酸等四大系统的相互激活,产生过度炎症反应,导致组织、细胞的损害。同时,脓毒症患者外周血单核细胞中 NF- κ B 的活化程度可作为疾病的预警指标。在实验中发现所有 6 天内死亡病例的 NF- κ B 活性均高于基础值二倍以上,而幸存者 NF- κ B 活性在 1 周~2 周内均保持在正常值二倍以下^[12]。在动物实验中,Manning 等利用 SD 大鼠脓毒症休克模型发现心肺等组织中出现 NF- κ B 核内移和 DNA 结合活性迅速增高,并且出现于 ICAM-1、

VCAM-1、P 选择素(P-selectin)和 E 选择素(E-selectin)基因活化表达之前。从而认为 NF- κ B 活化是体内急性炎症发生的一个早期事件,对急性炎症发展起重大作用^[13]。

对 NF- κ B 的负反馈调节是由于细胞内 NF- κ B 的激活导致 I κ B α 、P₁₀₅ 基因的转录上调而形成,因此此二基因上均有 NF- κ B 的作用位点,随着 P₁₀₅ 的增加,P₅₀ 二聚体也增加,从而降低 NF- κ B 介导的效应。因为 P₅₀ 二聚体不能与 I κ B 有效结合,并且缺乏转录激活区域,它们通过与其它 Rel 蛋白竞争 NF- κ B 的结合位点来抑制 NF- κ B 介导的基因表达。另外,负反馈也可由于细胞刺激(TNF、IL-1)导致反向细胞因子的产生,如 IL-10 即可通过抑制内毒素介导的 NF- κ B 激活,抑制某些细胞因子的产生^[14]。

三、NF- κ B 抑制治疗

尽管目前尚不确定阻止 NF- κ B 活化是否直接影响宿主的防御功能,但是通过阻止 NF- κ B 活化,抑制中性白细胞炎症反应,能减少过多的细胞因子生成和器官损伤。正是因为 NF- κ B 可调控众多炎症介质的产生,故人们试图在 SIRS 中抑制 NF- κ B 活化,来阻止反应细胞内 TNF- α 、IL-1 β 或内毒素等多种炎症介质的产生和相互诱导。在实验室中,人们运用抗 TNF 抗体,可溶性 TNF 受体、IL-1 受体拮抗剂、抗内毒素抗体和可溶性 CD₁₄ 等抗细胞因子疗法治疗 SIRS,均可间接地限制 NF- κ B 的活化,阻止 TNF- α 、IL-1 和内毒素等的产生,来防止炎症发展,预防 MOD 的发生。尽管这些手段在限制实验性 SIRS 的死亡率和病情恶化有效,但在人体临床试验中疗效并不如人意。这是因为在炎症启动后,通过阻止某一种或几种介质的产生来抑制 NF- κ B 的活化,从而抑制炎症的发展是无效的,因为其它炎症介质同样可以激活 NF- κ B。这也证明了抗细胞因子疗法的局限性。所以,人们转而研究和寻找直接抑制 NF- κ B 活化而普遍性降低炎症反应的抑制剂。

1. 抗氧化剂 抗氧化剂的研究最多。氧自由基(ROS)在介导许多刺激剂激活 NF- κ B 过程中起重要作用,使用抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)、维生素 E 衍生物、二巯基甲酸肽吡咯烷(PDTC)、二甲基亚砜(DMSO)、S-allylcysteine(SAC)以及抗坏血酸等来抑制 NF- κ B 的产生或活化对限制炎症有效^[15]。

2. 蛋白酶抑制剂 通过抑制 26S 蛋白酶降解 I κ B α ,从而阻断 NF- κ B 的激活及核转位,如肽类硼酸 PS₃₄₁ 为蛋白酶体的竞争抑制剂,抑制 NF- κ B 的活化

及其后的炎症及蛋白基因的转录。另外, MG₁₃₂、Lactacystin、Calpastatin 也能阻断 I κ B 的降解。在应用中如能有效地控制这些抑制剂的毒副作用, 它们将成为短程抗炎治疗的有力手段之一。

3. 一氧化氮 :NO 既可以 S-硝基化 NF- κ B 的半胱氨酸, 降低 NF- κ B 的 DNA 结合活性, 又可以通过抑制蛋白酶活性阻断 I κ B α 的降解。另外, NO 还可作为 H₂O₂ 捕捉剂和抗氧化剂抑制其他自由基激活 NF- κ B。因此, 硝酸甘油、硝酸呋喃妥因等产生 NO 的药物除舒张血管外, 尚能降低 NF- κ B 介导的 IL-1、TNF 和粘附分子的表达。

4. 诱导内毒素耐受 :内毒素耐受指的是经过预先内毒素刺激后, 机体内毒素触发反应减弱的一种现象。研究证实, 无论是动物还是人经过多次反复小剂量内毒素处理后能诱导出耐受能力。内毒素耐受的巨噬细胞在再次受到内毒素刺激时, 其细胞因子的基因表达能力明显减弱(其中包括 TNF α 、IL-1、IL-6、IL-8 等)。因为内毒素耐受发生在细胞水平, 故机体同时对 TNF- α 、IL-1 β 等多种介质产生交叉耐受。诱导内毒素耐受的自然发生是抑制 NF- κ B 依赖性炎症介质产生的有效方法。许多动物和临床研究已证明, 内毒素耐受诱导法对 SIRS 患者治疗是有效的^[16]。

5. NF- κ B 诱导激酶(NIK)、IKB 激酶(IKK)抑制剂在细胞内 NF- κ B 的激活过程中, NIK 诱导激活 IKK 是一关键性环节。人们可以通过特异性抑制 NIK 或 IKK 的活化来阻断 NF- κ B 的激活, 而不会干扰其它信号传导途经, 这将是理想的 NF- κ B 活化抑制方法。近来, Hehner 等发现倍半萜内酯(Sesquiterpene Lactones, SLs)可以阻止 NIK 诱导的 IKK 的激活, 从而阻止 NF- κ B 的活化^[17]。而 Paillard 将 IKB 的基因转移到表达高水平 NF- κ B 的肿瘤细胞可引起细胞凋亡, 提示 IKB 基因转移可能成为一种有效的治疗手段^[18]。

6. 皮质激素 :皮质激素是一类对免疫系统具有广泛作用的混合物, 长期以来被认为是一种有力的抗炎剂和细胞因子生成抑制剂^[19]。如糖皮质激素能通过两条途径阻断 NF- κ B 的活化。一是糖皮质激素受体与 RelA 直接相互作用, 抑制 NF- κ B 与 DNA 结合; 二是糖皮质激素激活 IKB α 的产生, NF- κ B 被下调^[20]。最近发现环孢素、他克莫司(Tacrolimus)亦可抑制 IKB α 的降解, 阻止 NF- κ B 活化、进入核内。另外, 水杨酸盐类也能部分地阻止 NF- κ B 的激活而

发挥抗炎作用^[21]。

四、结语

NF- κ B 是一种重要的转录因子, 通过调控细胞因子的级联作用和其他促炎介质的产生而在急性炎症中起枢纽作用。越来越多的证据表明, NF- κ B 在许多疾病如 SIRS、MODS 和 ARDS 等的病理过程中发挥着重要作用。因此, 这些疾病的防治研究的重点在于如何有效地限制 NF- κ B 的活化, 从而降低炎症介质的产生和释放。目前研究的许多措施如抗氧化剂、蛋白酶抑制剂、皮质激素应用和诱导内毒素耐受等都有一定的价值, 但这些抑制物往往由于过大或非特异性的活性而引发毒副作用, 致使临床应用受限。而信息药物具有分子量小、设计与合成较易、作用特异、剂量与毒副作用小等优点, 可能成为治疗 SIRS 最有前途的药物之一, 但 NIK 或 IKK 抑制剂尚无理想药物。

虽然 NF- κ B 与炎症介质及 SIRS 之间关系逐渐明朗, 但对于 NF- κ B 活性能否作为人为干预的预测指标、NF- κ B 对炎症介质基因表达调控的具体方式和调控程度、NF- κ B 与其它转录因子的相互关系等问题, 均有待于进一步探索。

参考文献

- [1] Am College of chest Surgeon. Crit Care Med, 1992; 20(6): 8864 ~ 874.
- [2] Verma IM, et al. Genes Dev, 1995; 9: 2723 ~ 2735.
- [3] Siebenlist U, et al. Annu Rev Cell Biol, 1994; 10: 405 ~ 455.
- [4] Piette J, et al. Biol Chem, 1997; 378(11): 1237 ~ 1245.
- [5] May MJ, et al. Immunol Today, 1998; 19(2): 80 ~ 88.
- [6] Ghosh S, et al. Annu Rev Immunol, 1998; 16: 225 ~ 260.
- [7] Yao YM, et al. Resuscitation, 1995; 29(2): 157 ~ 168.
- [8] Shiozaki T, et al. Surgery, 1995; 118(1): 44 ~ 48.
- [9] Christman JW, et al. Intensive Care Med, 1998; 24: 1131 ~ 1138.
- [10] Ledebur H, et al. J Biol Chem, 1995; 270: 2933 ~ 2943.
- [11] Shu H, et al. Mol Cell Biol, 1993; 13: 6283 ~ 6289.
- [12] Bohrer H, et al. J Clin Invest, 1997; 100: 972 ~ 985.
- [13] Manning AM, et al. J Inflammation, 1995; 45: 283 ~ 296.
- [14] Song S, et al. Blood, 1997; 89(12): 4461.
- [15] Blackwell TS, et al. Am J Respir Cell Mol Biol, 1997; 17(1): 3 ~ 9.
- [16] Astiz ME, et al. Crit Care Med, 1999; 23: 9 ~ 17.
- [17] Hehner SP, et al. J Immunol, 1999; 163: 5617 ~ 5623.
- [18] Paillard F, et al. Hum Gene Ther, 1999; 10(1): 1 ~ 3.

- [19] Harddad EB, et al. FEBS Lett, 1996 39: 265 ~ 268.
[20] Auphan N, et al. Science, 1995 270(5234): 286 ~ 290.
[21] Lee JI, et al. J Clin Pharmacol, 1998 38(11): 981 ~ 993.

(收稿日期 2001-02-13)

【作者简介】

周建大(1971-),男(汉族),湖南桃源人,主治医师、硕士研究生.

罗成群(1948-),男(汉族),湖南衡南县人,教授.

第七届全国烧伤创疡学术会议征文通知

为进一步总结交流‘皮肤再生医疗技术’在烧伤创疡及相关疾病的基础和临床研究方面所取得的经验与成果,提高烧伤创疡医学的临床和学术水平,中国中西医结合学会烧伤专业委员会、中国烧伤创疡科技中心、中国烧伤创疡杂志社定于 2002 年 9 月在北京联合召开第七届全国烧伤创疡学术会议。

征文内容:

1. 有关烧伤医学哲学思想及全新生命医学理论;
2. 烧伤基础研究:包括重度烧伤后应激反应、病理生理、生化、免疫功能、水电解质代谢、酸碱失衡及并发症监测诊断等;
3. 烧伤临床治疗:包括不同原因、部位、面积、深度烧伤临床治疗经验、深度创面的临床处理、原位干细胞培植再生修复技术的应用和组织学观察研究等;
4. 大面积烧伤治疗:包括徐氏补液公式的临床实践或验证、各期临床处理、感染防治、内脏功能维护、营养支持、并发症诊治以及临床资料总结和成批大面积烧伤救治经验等;
5. 客观总结分析传统疗法与烧伤湿性医疗技术的临床效果;
6. 皮肤粘膜损伤疾病的基础研究与应用 MEBT 治疗的临床经验总结;
7. 美宝系列产品防治某些皮肤疾病与创面愈合后疤痕的疗效及后期整复治疗等;
8. 烧伤病人创面局部护理、全身系统化护理及整体护理经验;
9. 烧伤湿性医疗技术的临床教学实践与经验总结;
10. MEBT/MEBO 学术发展及今后设想等;

征文要求:

1. 2000 年以来未在全国学术刊物公开发表或在全国会议上交流的论文均可参加征文。
2. 每篇论文限 2000 ~ 5000 字以内,中文摘要 200 字左右,论文摘要按:目的、方法、结果、结论四部分内容撰写,并附 2 ~ 5 个关键词;
3. 稿件用正式稿纸书写或打印,不符合要求的稿件恕不受理;简化字及计量单位按国家统一规定著录;图表采用三线表,插图要描绘清楚,照片要清晰,并附有文字说明;
4. 来稿请将作者姓名、工作单位、职务或职称、电话、通信地址及邮编书写清楚,以便有事联系。稿件请加盖公章,自留底稿,恕不退稿;
5. 征文截止日期为 2002 年 5 月 31 日(以邮戳为准)请注明会议征文并寄至北京市宣武区广义街 7 号乐凯大厦 12 层,中国中西医结合学会烧伤专业委员会办公室收,邮编:100053,联系人:刘晓梅。
6. 论文拟请专家评审,凡评上优秀论文将被收录在大会论文集内,其中第一作者可参加会议交流。

中国中西医结合学会烧伤专业委员会
二〇〇一年七月三十日