

●综述与进展●

Fas/FasL 在缺血-再灌注心肌细胞凋亡中的作用研究进展

左汉恒 黄绍烈

(南昌大学第一附属医院 江西南昌 330006)

关键词: Fas/FasL; 缺血-再灌注损伤; 心肌; 细胞凋亡; 综述

中图分类号: R 965

文献标识码: A

文献编号: 1671-4040(2007)06-0091-02

在动物实验和临床观察中发现, 恢复缺血组织的血液再灌注后, 部分动物或患者细胞功能代谢障碍及结果破坏反而加重, 人们把这种血液再灌注后缺血性损伤进一步加重的现象称为缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury)。缺血-再灌注损伤是在缺血性损伤基础上发展而来的, 再灌注可以使可逆性缺血损伤加重, 亦可能促进可逆性缺血损伤转化为不可逆性损伤。人们认识最早且研究最多的是心脏缺血-再灌注损伤, 现已证实, 在脑、肾、肠、肺和皮肤等器官组织都存在缺血-再灌注损伤现象。缺血-再灌注损伤引起心肌细胞死亡包括坏死和凋亡两种方式, 细胞凋亡在心肌缺血-再灌注损伤中起到重要作用, 抑制细胞凋亡能减小心肌梗死面积^[1-2]。缺血-再灌注时心肌 Fas/FasL 表达增加, 认为 Fas/FasL 凋亡通路在心肌缺血-再灌注损伤引起的心肌凋亡起到重要作用, 但也有实验发现 Fas/FasL 的表达增加同再灌注心肌细胞凋亡无关。本文就近几年来在这方面的研究进展作一综述。

1 Fas/FasL 凋亡通路的特性

1.1 Fas 的生物学特性 Fas 又称 Apo1 或 CD95 分子, 它是广泛分布于多种细胞表面的一种跨膜糖蛋白, Fas 分子与肿瘤坏死因子(TNF)受体和神经生长因子(NGF)受体具有同源性, 属于 TNF 和 NGF 受体超家族。编码人类 Fas 分子的基因位于 10 号染色体长臂上, 基因长度大约为 25kb, 含有 9 个外显子。人类的 Fas 分子由 325 个氨基酸组成, 属于 I 型跨膜糖蛋白, 分为胞外区、跨膜区和胞内区 3 个部分。sFas 称为可溶性 Fas, 游离存在于血液、细胞间液等细胞外液中, 它是 Fas 基因在转录、翻译过程中丢失了一部分碱基造成的。sFas 因缺乏跨膜蛋白, 因此不能与 FasL 结合诱导细胞凋亡。

1.2 FasL 的生物学特性 FasL(Fas ligand)是 Fas 的配体, 是一种 II 型跨膜糖蛋白。人类编码 FasL 的基因位于 1 号染色体长臂上, FasL 的分子量大约为 40ku, 由 281 个氨基酸组成, 也分为胞外区、跨膜区和胞内区 3 个部分。FasL 的分布较为局限, 主要分布在活化的 L 淋巴细胞表面。可溶性 FasL 经金属酶样物质作用后产生的。研究证实, 人类的 sFasL 在体内外均具有生物学活性, 可与 Fas 结合, 诱导细胞凋亡。

1.3 Fas/FasL 凋亡信号传导机制 在 Fas/FasL 凋亡信号途径中, Fas 相关的死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)蛋白分子除了包含死亡结构域(death domain, DD)结构外, 也包含死亡效应结构域(death effector domain, DED)。通常 Fas 配体以同三聚体形式和三个 Fas 分子交联, 导致 Fas 的 DD 成簇。后者以其 DD 为中介结合 FADD, 形成死亡诱导信号复合体。随后, FADD 通过其 DED 结构域和 caspase-8 的 DED 区相互作用, 导致 caspase-8 形成寡聚体, 并驱使其自身活化。活化的 caspase-8 进一步活化效应 caspases, 如 caspase-3 等, 细胞发生凋亡^[3]。Fas/FasL 还可以通过另一条通

路而引起细胞凋亡, FasL 结合到 Fas 上导致 Bid(一种促凋亡蛋白)裂解, 引起线粒体释放细胞色素 C(cytochrome c, cyt c)到胞浆中, cyt c 可以活化 caspase-9, 活化的 caspase-9 再激活下游分子, 包括 caspase-3 以及可能随后被激活的 caspase-2、-6、-8 和 -10, 诱导细胞凋亡^[4]。

2 Fas/FasL 与心脏缺血-再灌注

2.1 Fas/FasL 在缺血-再灌注心肌中的表达 缺血-再灌注引起心肌 Fas/FasL 表达上调, 这在心肌细胞培养、离体心脏和在体心脏动物缺血-再灌注损伤模型中均得到证实^[5-8]。在缺血-再灌注损伤引起心肌细胞 Fas/FasL 表达增加过程中 STAT-1 (signal transducer and activator of transcription-1, STAT-1)起到关键作用。Fas 和 FasL 基因是 STAT-1 的靶基因, 缺血-再灌注时 STAT-1 转移到细胞核中, 使 Fas 和 FasL 基因被激活, Fas 和 FasLmRNA 转录增加, 进而 Fas 和 FasL 蛋白合成增加^[9]。

2.2 Fas/FasL 与缺血-再灌注心肌细胞凋亡 缺血-再灌注心肌中 Fas/FasL 表达增加, 但 Fas/FasL 同缺血-再灌注心肌细胞凋亡的关系存在争议。有实验证明抑制其表达能减少再灌注心肌细胞凋亡, 减少梗死面积, 另一些实验却没有得到相同的结果。Tanaka 等^[7]发现缺氧可诱导体外培养的新生鼠心肌细胞凋亡, 且上调 Fas 基因 mRNA 转录, 认为 Fas 基因 mRNA 转录增加与心肌细胞凋亡有一定关系。Jeremias 等^[8]应用离体大鼠全心脏灌注缺血-再灌注模型时发现: 缺血-再灌注后细胞外液 FasL 含量增加; 野生型小鼠(Fas 功能正常)比淋巴组织增生病的大鼠(lymphoproliferative, lpr) (Fas 无功能)细胞凋亡增加。2003 年, Peiyee Lee 等^[9]研究在体小鼠也取得类似的结果, 在心肌缺血-再灌注损伤实验中, lpr 小鼠同野生型小鼠相比心肌细胞凋亡减少了 63.8%, 同时梗死面积减少了 62.3%。然而, L Gomez^[10]等研究却发现: lpr 小鼠同对照小鼠相比缺血-再灌注后心肌细胞凋亡无差异, 2 组心肌梗死面积也无差异, 并认为 Fas 诱导的细胞凋亡在心肌再灌注引起的心肌细胞凋亡中起的作用非常小。Tekin D 等^[11]应用基因敲除的方法敲除了小鼠的 Fas 基因或 FasL 基因, 使 Fas/FasL 凋亡通路功能丧失, 再使离体心脏缺血 20min 后复流 30min, 结果发现基因敲除组同野生组相比梗死面积没有差别, 并认为 Fas/FasL 凋亡通路引起的心肌细胞凋亡在离体急性缺血-再灌注小鼠心脏梗死面积中不起决定性作用。Fas/FasL 凋亡通路同线粒体凋亡通路之间有交互作用, Fas/FasL 可以通过影响线粒体凋亡通路的下游引起细胞凋亡, 但在 Tekin D 的实验中并没有观察到 Fas/FasL 对线粒体凋亡通路的影响。线粒体凋亡通路在缺血-再灌注心肌细胞凋亡中独自作用, 抑制线粒体通路能明显减少心肌细胞凋亡, 减少梗死面积。

综上所述, 肾^[12]和肺^[13]等组织缺血-再灌注时 Fas/FasL

川芎嗪抗肿瘤药效研究概况

廖玉群¹ 李文宏² 刘永忠²

(1 江西药都樟树制药有限公司 樟树 331200; 2 江西中医学院 南昌 330006)

关键词: 川芎嗪; 抗肿瘤; 综述

中图分类号: R 979.1

文献标识码: A

文献编号: 1671-4040(2007)06-0092-02

川芎嗪(2,3,5,6-四甲基吡嗪,TMP)是中药川芎根茎中的生物碱单体,具有抗凝、抑制血小板聚集、扩张血管、改善微循环、抗内皮素和保护血管内皮、抗氧化和钙拮抗作用等广泛的生物作用。其临床应用广泛,涉及内科、骨伤科、妇产科、儿科、皮肤科、五官科疾病和恶性肿瘤等多种疾病。本文对近年来川芎嗪在肿瘤性疾病中的研究概况予以论述。

1 直接抑制肿瘤细胞

该作用研究主要见于体外实验。500mg•L⁻¹TMP 对人胃癌低分化腺癌(MKN,5)有一定杀伤作用,抑制率约为 24.4%~28.5%^[1]。TMP 能轻度抑制敏感性白血病 K562 细胞的 DNA 合成,提示 TMP 可试用于白血病的临床治疗^[2]。TMP(≥250mg•L⁻¹)对体外培养的 B16-F10 黑色素细胞 DNA、RNA 和蛋白质合成具有抑制作用,并存在剂量依赖关系^[3]。

2 抗肿瘤转移

恶性肿瘤侵袭和转移是其生物学特性之一,肿瘤转移最终成为大多数癌症患者死亡原因,故抗转移研究已越来越为各国学者重视。肿瘤细胞转移至少经两次黏附和侵袭基底膜的过程,其转移过程与血液黏度、血小板功能及血小板因子活性密切相关,且受机体免疫功能调控。

2.1 抑制肿瘤细胞黏附和侵袭 TMP 对肿瘤细胞与内皮细胞的黏附均有明显抑制作用,并可抑制 CD44、CD49 黏附因子表达,还可减轻内皮细胞通透性,保护内皮细胞的完整,阻断肿瘤细胞与基质膜的黏附,从而减少了肿瘤转移形成^[4]。另有研究表明,TMP 可抑制在裸鼠体内高转移的人肺巨细胞瘤表达都会升高,抑制 Fas/FasL 表达升高能减少再灌注缺血细胞的凋亡。但心脏缺血-再灌注引起心肌细胞凋亡与 Fas/FasL 表达增加之间是否有关联却存在争议。大部分动物实验发现抑制 Fas/FasL 的表达心肌细胞凋亡减轻、梗死面积减小,有少部分的动物实验却没有得到以上的结果。Fas/FasL 在心脏缺血-再灌注损伤中的作用值得进一步研究。

参考文献

[1]James D,McCully, Hidetaka Wakiyama,et al. Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury [J].Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004, 286: 1 923~1 935

[2]Michael T,Crow, Kartik Mani,et al. The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis[J].Circ Res,2004,95: 957~970

[3]Nagata S.Apoptosis by death factor[J].Cell,1997,88: 355~365

[4]Ju ST,MatsuiK,OzdemirliM.Molecular and cellular mechanisms regulating T and B cell apoptosis through Fas/FasL interaction[J].Int Rev Immunol, 1999,18(5-6): 485~513

[5]徐曼,李全凤,张伟华,等.复方丹参滴丸对培养的乳鼠心肌细胞缺氧及缺氧/复氧时 Fas/FasL 蛋白表达的影响[J].中国病理生理杂志,2003, 9(4): 1 499~1 503

[6]Anastasis Stephanou, Tiziano M,Scarabelli,et al.Induction of Apoptosis and Fas Receptor/Fas Ligand Expression by Ischemia/Reperfusion in Cardiac Myocytes Requires Serine 727 of the STAT-1 Transcription Factor but Not Tyrosine 701 [J]. the journal of biological chemistry,2001,276(30): 28 340~28 347

系 P 细胞对 Boyden 小室的侵袭作用,并可抑制血小板的促癌细胞侵袭作用,从而抑制肿瘤转移;但 TMP 能促进 PGC-3 细胞对纤维黏连蛋白的黏附作用,又促进肿瘤转移^[5,6]。

2.2 抗凝作用 肿瘤患者高凝状态有利于肿瘤转移,TMP 可通过抗凝起到抗肿瘤转移作用。近 20 年来关于肿瘤抗凝治疗的体外实验及临床研究均有报道,抗凝剂多为小剂量华法令和小分子肝素。研究结果表明,抗凝治疗可延长小细胞肺癌患者中位生存期,减少血栓发生率^[7,8]。

2.3 抑制血小板聚集 TMP 可降低肺癌患者血小板黏附、聚集及凝血因子活性,从而起到抗转移作用;此外,机体的 TXA₂-PGI₂ 平衡调节系统在维持血管壁完整性、调节血小板功能以及对凝血和血栓形成过程均有着重要作用^[9]。TMP 可使血浆 TXA₂ 含量明显减低,TXA₂/PGI₂ 比值减小,从而抑制血小板聚集,起到抗肿瘤转移作用^[9]。

3 免疫调节作用

1930 年 Burnat 提出“免疫监视”(immuno surveillance)学说,认为机体免疫系统可通过细胞免疫机制杀灭肿瘤,若机体免疫功能低下或缺陷,就可能形成肿瘤。此后大量临床观察和动物实验均支持这一学说。组织中的巨噬细胞和自然杀伤细胞(NK 细胞)均具有抗肿瘤、抗感染及免疫调节作用。TMP 可增强机体免疫功能,从而增强抗肿瘤效果,可提高小鼠外周血淋巴细胞转化率,并能增强单核巨噬细胞的吞噬功能^[10]。TMP 能拮抗环磷酰胺对小鼠 NK 细胞活性的抑制作用,减轻环磷酰胺对免疫系统的损伤,起到免疫保护和间接

[7]Tanaka M, Ito H ,Adachi S ,et al . Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen messenger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes [J].Circ Res,1994,75: 426~433

[8]I Jeremias, C Kupatt, A Martin-Villalba,et al. Involvement of CD95/Apo1/Fas in Cell Death After Myocardial Ischemia [J]. Circulation, 2000,102: 915~920

[9]Peiyee Lee, Masataka Sata, David J,et al.Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo [J].Am J Physiol Heart Circ Physiol,2003,284: 456~463

[10]L Gomez, N Chavanis,L Argaud, et al.Fas-independent mitochondrial damage triggers cardiomyocyte death after ischemia-reperfusion[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2005,289: 2 153~2 158

[11]Tekin D, Xi L, Kukreja RC.Genetic deletion of Fas receptor or Fas ligands does not reduce infarct size after global ischemia-reperfusion in isolated mouse heart [J].Cell Biochem Biophys,2006,44 (1): 111~117

[12]Du C, Wang S, Diao H, et al.Increasing resistance of tubular epithelial cells to apoptosis by shRNA therapy ameliorates renal ischemia-reperfusion injury [J]. Am J Transplant, 2006,6 (10): 2 256~2 267

[13]Wang DS, Li Y, Dou KF,et al. Utility of adenovirus-mediated Fas ligand and bcl-2 gene transfer to modulate rat liver allograft survival [J].Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2006, 5(4): 505~510

(收稿日期: 2007-04-10)