

· 综 述 ·

p38 MAPK 在急性呼吸窘迫综合征的研究进展

程威¹, 刘虹², 王敏¹, 石志敬¹

1. 山西医科大学第一临床医学院, 山西 太原 030001; 2. 山西医科大学第一医院 ICU, 山西 太原 030001

关键词: 急性呼吸窘迫综合征; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 炎症反应; 细胞凋亡; 细胞信号转导通路**中图分类号:** R 563.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2015)12-1681-03

丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)是细胞内一组丝氨酸/苏氨酸磷酸化激活的蛋白激酶, MAPK 信号通路可在大多数细胞内表达, 将胞外刺激信号传导至胞内并引起细胞生物学的各种反应, 在细胞的生长、发育、分裂、凋亡及细胞间的功能同步化等多种生理过程扮演重要角色。p38 MAPK 是 MAPKs 中的一条通路, 在急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)的发生、发展过程中起重要作用, 越来越受国内外学者关注。

ARDS 是指由各种肺内外致病因素(排除心源性)导致的急性、进行性、顽固缺氧性呼吸衰竭的一种临床综合征, 发病迅速, 病情凶险, 病死率 35%~40%^[1], 其主要的病理生理变化为肺泡上皮细胞及肺血管内皮细胞受损, 肺微血管通透性增加, 肺泡腔富含蛋白质的渗出液, 导致肺水肿和透明膜的形成。ARDS 的发病机制错综复杂, 至今仍未完全阐明, 可能与下列因素有关: 炎症反应、微循环障碍、信号转导、细胞凋亡、肺泡水肿液的清除及基因易感性等。近年来, 细胞信号转导通路成为研究 ARDS 发病机制的热点, MAPK 可将胞外刺激信号(炎症、应激、缺血再灌注损伤等)传导至胞内并引起细胞生物学的各种反应, 在细胞的生长、发育、分裂、凋亡及细胞间的功能同步化等多种生理过程扮演重要角色, p38 MAPK 信号转导通路是 MAPK 家族中的主要成员之一, 被称为压力激活激酶, 可促进炎症的发展, 并在特定情况下激活细胞的程序化死亡, 在 ARDS 的发生发展过程中起重要作用^[2], 动物实验证明阻断 p38 MAPK 通路可以减轻 ARDS 发病过程中失控的炎症反应, 有效保护肺血管内皮细胞及肺泡上皮细胞^[3]。

1 p38 MAPK 信号转导通路的概况

1.1 p38 MAPK 通路的生物学特性 在哺乳类动物细胞内目前发现至少存在 3 条并行的 MAPKs 信号通路, 即 p38 MAPK 信号通路、ERK 信号通路以及 JNK 信号通路。p38 MAPK 属应激激活的蛋白激酶, 在应激条件下参与炎症反应、免疫调节、细胞分化及细胞凋亡等过程^[4]。p38 于 1993 年由 Brewster 等首次发现, Han 等^[5]在 1994 年通过培养小鼠肝脏细胞, 使用内毒素刺激, 在小鼠肝脏细胞 cDNA 文库中首次筛选出编码 p38 MAPK 的基因, 从而证明 p38 MAPK 是由 360 个氨基酸

构成的蛋白质。Han 等^[5]针对 p38 MAPK 在随后的研究中发现还存在 p38 三种新的亚型, 包括 p38 β 、p38 γ 与 p38 δ 。此外由于 p38 α 和 p38 β 剪接有两种方式, 因此 p38 的亚型共有 6 种, 同时其分布各有差异, p38 α 与 p38 β 分布广, 在全身的组织细胞中几乎都能得到表达, 其中 p38 β 2 在脑组织中分布较多; p38 γ 主要在骨骼肌细胞表达明显; p38 δ 主要在腺体组织有较强表达。

1.2 p38 MAPK 通路的激活 p38 MAPK 通路的激活有两种方式, 一种受内毒素、肿瘤坏死因子(TNF)和白细胞介素-1(IL-1)等炎性因子细胞外信号激活后转移至细胞内, 通过磷酸化转录因子来调节细胞因子等各种效应基因的表达^[6], 对细胞的分化和凋亡进行调控, 参与炎症反应过程和免疫调节, 是主要的激活方式; 另一种为无受体介导(紫外线照射、热休克、渗透压休克等)激活方式启动并引起细胞内一连续的作用, 通过双位点特异性激酶 MAPK/ERK 和 MEK/MKK 激酶, 将临近的酪氨酸和苏氨酸磷酸化, 这样 p38 MAPK 信号通路被激活, 随后移位入细胞核或细胞的其他部位, 和相应的目标底物结合, 对多种基因的转录和表达进行特异性调节。

1.3 p38 MAPK 信号转导通路的调节 MAPKs 通路的激活途径基本相似, 为保守的三级酶促级联反应: MAPK 激酶激酶—MAPK 激酶—MAPK, 激活后作用于转录因子, 进而调节特定基因的表达。p38 MAPK 信号通路同样为磷酸化级联反应: MEKKs/TAK—MKK6/MKK3—p38 MAPK, 其中 p38 MAPK 通路的关键酶包括 MAP2KKK 类的 MTK1、MLK2、MLK3 等和 MAP2KK 类的 MKK3、MKK4、MKK6、MKK3 和 MKK6 是 p38 常见的上游激酶, 它们通过直接对酪氨酸、丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化, 最终激活 p38^[7]。p38 对多种转录因子的基因表达活性进行调控, 转录因子、DNA 损伤基因、NF- κ B、热休克转录因子等的激活都需要 p38 的参与。同时多种细胞因子的产生也受 p38 的影响, 如单核巨噬细胞产生 TNF- α 、IL-6 等炎性因子就存在 p38 的激活, 同样中性粒细胞的活化与 p38 的激活密切相关, 在有关研究中用粒-巨噬细胞集落刺激因子、炎性因子(TNF- α 、IL-6)等作用中性粒细胞后可致 p38 的激活, 中性粒细胞的呼吸爆发作用的增强与粒-巨噬细胞集落刺激因子和 TNF- α 有关。

2 p38 MAPK 信号转导通路在肺内表达

Kung 等^[8]研究表明, 丙酮酸乙酯可以抑制 p38 MAPK 的

活性,从而减轻脂多糖导致的脓毒症大鼠的肺损伤,说明 p38 MAPK 通路参与脓毒症过程中的肺组织破坏,且通过抑制 p38 MAPK 通路可保护受损的肺组织。同时在小鼠失血性休克引起的肺损伤内,p38 MAPK 通路激活,肺组织血红素氧合酶(HO-1)表达水平上调,然而给予 p38 MAPK 抑制剂的小鼠失血性休克组,肺组织 HO-1 水平下调,表明 p38 MAPK 信号通路介导失血性休克诱发肺损伤时 HO-1 表达的上调^[9],HO-1 是血红素降解的限速酶,研究表明 HO-1 在各种炎症因子的刺激下具有抗炎作用,再一次证明 p38 MAPK 通路可能通过诱导组织中的关键酶调节受损组织中的炎症反应,也从另一个方向说明了 p38 MAPK 通路在调节炎症反应中具有两面性,即促炎及抗炎。研究发现在多种肺部疾病中均存在 p38 MAPK 的表达。Amrani 等^[10]进行了一项针对哮喘的研究,发现在哮喘患者气道平滑肌细胞中,炎症因子 TNF- α 与其受体结合后使 p38 MAPK 表达增强,p38 MAPK 反过来通过调节 TNF- α ,介导细胞间粘附分子 1 的表达,T 细胞的表达,IL-6 的分泌,RANTES 趋化因子的分泌等,肺动脉高压疾病研究中发现^[11],肺动脉血管外膜成纤维细胞增殖与低氧诱导因子-1(HIF-1)有关,而 HIF-1 的合成需要 p38 MAPK 的激活。且慢性缺氧性肺动脉成纤维细胞的表型改变(细胞增殖增加和有丝分裂原释放)依赖于 Rac-1-p38 MAPK 信号通路^[12]。有报道显示,p38 MAPK 可能参与了肺癌的形成,半乳糖凝集素-1 介导 p38 MAPK、ERK 和 COX-2 的表达增加,促进肺癌的进展和耐药性的产生^[13]。同样 Mountzios 等^[14]在胰腺癌患者中发现 p38 MAPK 高水平的表达。Renda 等^[15]对 18 例 COPD 不同严重程度的吸烟患者进行对照研究,通过测定 p38 MAPK 在肺组织的表达水平,结果显示磷酸化 p38 MAPK 在 COPD 组的肺泡巨噬细胞中明显增加,进一步研究表明增加程度与 FEV1/FVC 值成反比,另 Singh 等^[16]同样发现在 COPD 患者中磷酸化的 p38 MAPK 表达水平增加,并介导炎症反应,使炎症因子产生增加,然后通过 p38 MAPK 抑制剂 SB681323 处理后,COPD 的炎症反应明显减轻,细胞因子 TNF- α 水平降低。Armstrong 等^[17]对 COPD 患者应用类固醇激素联合 p38 MAPK 抑制剂,结果发现两种药物对 COPD 中肺巨噬细胞产生的炎症因子有联合协同抗炎作用。Yoshida 等^[18]应用 Western Blot 和免疫组化法对 10 例特发性肺纤维化(IPF)患者和 8 例正常肺组织匀浆样本进行对比,发现磷酸化 p38 MAPK 的表达在 IPF 组患者中明显增多,在肺内多种细胞中均可见激活的 p38 MAPK 表达增加。

3 p38 MAPK 信号通路调节 ARDS 的机制

3.1 调节炎症反应 大量研究表明在 ARDS 的发病过程中肺组织及血清中的炎症细胞因子明显增多,且与 p38 MAPK 的磷酸化呈正相关,因此可推测 ARDS 的炎症反应存在 p38 MAPK 通路的参与,p38 MAPK 持续的激活可引起炎症因子大量产生,最终导致全身失控性炎症反应。在炎症反应中,多种促炎和抑炎基因的转录需要 p38 MAPK 的激活,有研究显示 TNF、IL-1、IL-6 等炎症细胞因子刺激单核细胞、内皮细胞和中性粒细胞等先天性免疫细胞后能检测到磷酸化 p38 MAPK 的

表达增强。且单核/巨噬细胞表达 TNF、IL-1、IL-6、IL-8 和环加氧酶-2(COX-2)均需要 p38 MAPK 的参与。同样,炎症因子介导的内皮细胞 COX-2 表达、PG 合成和 E-选择素的表达亦属 p38 MAPK 依赖^[19],还有缓激肽的产生增多也与 p38 MAPK 的激活有关,在大多数组织中缓激肽受体存在低水平的表达,而当组织损伤时,缓激肽受体数量明显上调,而该受体的上调需要 p38 的激活,从而导致组织对激肽反应的加强,最终使肺组织毛细血管通透性增强,形成肺水肿^[20]。因此 p38 MAPK 磷酸化可引起前炎症细胞因子的大量释放,诱导 iNOS 酶、VCAM-1 和 COX-2 等粘附蛋白过度表达,上调转录因子的活性,从而调节中性粒细胞聚集,迁徙、呼吸爆发。大量研究表明,使用 p38 MAPK 通路特异性抑制剂能明显减轻炎症反应^[21],p38 MAPK 的特异性抑制剂 SB203580 对炎症细胞因子的抑制作用已得到公认,在多种动物体内外研究中得到证实。它不仅能抑制 LPS 诱导的 TNF- α 产生,降低内毒素所致脓毒症小鼠的死亡率,且对胶原佐剂诱导的关节炎及气道过敏性炎症均有治疗作用。研究表明,腹腔内注入 p38 抑制剂可减轻胰腺炎诱发的 ARDS 的炎症反应,改善预后^[22]。

3.2 调控细胞凋亡 细胞凋亡是在特定时空中发生的、受机体严密调控的细胞“自杀”现象。目前研究表明,p38 MAPK 通过以下多种途径参与调节细胞凋亡^[23]:(1)增强 c-myc 基因的表达;(2)磷酸化 p53;(3)参与 Fas/ FasL 介导的凋亡过程;(4)激活 c-jun 和 c-fos 基因;(5)诱导 Bax 蛋白转位;(6)增强 TNF2 α 表达。在 ARDS 过程中涉及到的细胞凋亡机制主要包括中性粒细胞的正常凋亡途径异常、肺泡巨噬细胞凋亡增加、肺血管内皮细胞凋亡增加以及肺泡上皮细胞过度凋亡,从而引起肺损伤。Zhang 等^[24]的研究发现 MLE-12 细胞暴露于高浓度氧气后 p38 持续活化,且 p38 通过介导 H₂O₂ 来诱导细胞氧化性凋亡,抑制 p38 MAPK 的活化可以减轻 LPS 介导的通过 Fas/ FasL 途径引起肺泡上皮细胞的凋亡的肺损伤。同样 Le 等^[25]研究发现,机械通气相关肺损伤的肺泡上皮细胞凋亡依靠 p38 MAPK 介导的黄嘌呤氧化还原酶途径,可见 p38 MAPK 通过多种途径调节肺泡上皮细胞的凋亡,以致促进 ARDS 的发生与发展。Aluarado-Kristensson 等^[26]研究发现,p38 MAPK 的表达增加,中性粒细胞的凋亡减少,当 LPS 刺激之前给予中性粒细胞 p38 的抑制剂(SB203550)预先处理,结果发现 LPS 所致的中性粒细胞凋亡明显增强,这表明 p38 MAPK 在中性粒细胞凋亡中发挥重要作用。

综上所述,ARDS 具有复杂的病理生理过程,p38 MAPK 通路可以通过调节炎症反应、调控细胞凋亡等多种途径直接或间接参与 ARDS 的发生、发展过程。在 ARDS 发病过程中干预 p38 MAPK 通路,有望延缓或逆转 ARDS 进程,为 ARDS 的治疗提供新思路。且随着研究的不断深入,相信在不久的将来,p38 MAPK 通路干预一定会为 ARDS 的治疗带来新的方法。

参考文献

[1] Lee JW,Gupta N,Serikov V,et al. Potential application of mesenchymal stem cells in acute lung injury[J]. Expert Opin Biol Ther,2009, 9(10):1259-1270.

- [2] 蒋淑君,张楠,卜祥宁,等. p38 MAPK 磷酸化水平增高参与 HPC 降低 MCAO 所致小鼠缺血性脑损伤[J]. 基础医学与临床, 2009,29(7):691-696.
- [3] Sim YS, Kim SY, Kim EJ, et al. Impaired Expression of MAPK is Associated with the Downregulation of TNF- α , IL-6, and IL-10 in Mycobacterium abscessus Lung Disease[J]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2012,72(3):275-283.
- [4] Chen H, Xing B, Liu X, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after renal ischemia/reperfusion injury in rat[J]. Transpl Int, 2008,21(4):364-371.
- [5] Han J, Lee JD, Bibbs L, et al. A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells[J]. Science, 1994, 265(5173):808-811.
- [6] Chung KF. p38 mitogen-activated protein kinase pathways in asthma and COPD[J]. Chest, 2011, 139(6):1470-1479.
- [7] Han J, Sun P. The pathways to tumor suppression via route p38[J]. Trends Biochem Sci, 2007, 32(8):364-371.
- [8] Kung CW, Lee YM, Cheng PY, et al. Ethyl pyruvate reduces acute lung injury via regulation of iNOS and HO-1 expression in endotoxemic rats[J]. J Surg Res, 2011, 167(2):e323-e331.
- [9] Zhang X, Bedard EL, Potter R, et al. Mitogen-activated protein kinases regulate HO-1 gene transcription after ischemia-reperfusion lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 283(4):L815-L829.
- [10] Amrani Y, Ammit AJ, Panettieri RA Jr. Tumor necrosis factor receptor (TNFR) 1, but not TNFR2, mediates tumor necrosis factor- α -induced interleukin-6 and RANTES in human airway smooth muscle cells; role of p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases[J]. Mol Pharmacol, 2001, 60(4):646-655.
- [11] Mortimer HJ, Peacock AJ, Kirk A, et al. p38 MAP kinase: essential role in hypoxia-mediated human pulmonary artery fibroblast proliferation[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2007, 20(6):718-725.
- [12] Carlin CM, Celnik DF, Pak O, et al. Low-dose fluvastatin reverses the hypoxic pulmonary adventitial fibroblast phenotype in experimental pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 47(2):140-148.
- [13] Chung LY, Tang SJ, Sun GH, et al. Galectin-1 promotes lung cancer progression and chemoresistance by upregulating p38 MAPK, ERK, and cyclooxygenase-2[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(15):4037-4047.
- [14] Mountzios G, Planchard D, Besse B, et al. Mitogen-activated protein kinase activation in lung adenocarcinoma: a comparative study between ever smokers and never smokers[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(13):4096-4102.
- [15] Renda T, Baraldo S, Pelaia G, et al. Increased activation of p38 MAPK in COPD[J]. Eur Respir J, 2008, 31(1):62-69.
- [16] Singh D, Smyth L, Borrell Z, et al. A randomized, placebo-controlled study of the effects of the p38 MAPK inhibitor SB-681323 on blood biomarkers of inflammation in COPD patients[J]. J Clin Pharmacol, 2010, 50(1):94-100.
- [17] Armstrong J, Harbron C, Lea S, et al. Synergistic effects of p38 mitogen-activated protein kinase inhibition with a corticosteroid in alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 338(3):732-740.
- [18] Yoshida K, Kuwano K, Hagimoto N, et al. MAP kinase activation and apoptosis in lung tissues from patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. J Pathol, 2002, 198(3):388-396.
- [19] Yan Z, Stapleton PP, Freeman TA, et al. Enhanced expression of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in response to endotoxin after trauma is dependent on MAPK and NF- κ B mechanisms[J]. Cell Immunol, 2004, 232(1/2):116-126.
- [20] Christopher J, Velarde V, Jaffa AA. Induction of B(1)-kinin receptors in vascular smooth muscle cells; cellular mechanisms of map kinase activation[J]. Hypertension, 2001, 38(3 Pt 2):602-605.
- [21] Hoogendijk AJ, Pinhanos SS, van der Poll T, et al. Intrapulmonary administration of a p38 mitogen activated protein kinase inhibitor partially prevents pulmonary inflammation[J]. Immunobiology, 2013, 218(4):435-442.
- [22] Pereda J, Sabater L, Cassinello N, et al. Effect of simultaneous inhibition of TNF- α production and xanthine oxidase in experimental acute pancreatitis: the role of mitogen activated protein kinases[J]. Ann Surg, 2004, 240(1):108-116.
- [23] 王誉霖, 张励才. p38MAPK 信号转导通路与细胞凋亡研究进展[J]. 慢性病学杂志, 2010, 12(12):1665-1667.
- [24] Zhang X, Liu F, Liu H, et al. Urinary trypsin inhibitor attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by blocking the activation of p38 mitogen-activated protein kinase[J]. Inflamm Res, 2011, 60(6):569-575.
- [25] Le A, Damico R, Damarla M, et al. Alveolar cell apoptosis is dependent on p38 MAP kinase-mediated activation of xanthine oxidoreductase in ventilator-induced lung injury[J]. J Appl Physiol (1985), 2008, 105(4):1282-1290.
- [26] Alvarado-Kristensson M, Andersson T. Protein phosphatase 2A regulates apoptosis in neutrophils by dephosphorylating both p38 MAPK and its substrate caspase 3[J]. J Biol Chem, 2005, 280(7):6238-6244.

收稿日期:2015-09-15 修回日期:2015-09-21 编辑:周永彬