

脂氧素与肝脏疾病的研究进展

严丹^{1#} 周晓燕^{2#} 闵卫平^{3,4*}¹南昌大学医学院药理学教研室, 南昌 330006; ²南昌大学医学院病理生理学教研室, 南昌 330006;³南昌大学医学院, 南昌 330006; ⁴江西省医学科学研究所, 南昌 330006)

摘要 脂氧素(lipoxins, LXs)为花生四烯酸代谢产物,是体内最重要的内源性脂质抗炎促消退介质之一。近年来,有关LXs合成途径、生物学效应及其在某些肝脏疾病中的作用等方面的研究均有许多进展。为此,该文就相关内容作一综述。

关键词 脂氧素; 炎症; 肝脏疾病

Lipoxins and Liver Diseases

Yan Dan^{1#}, Zhou Xiaoyan^{2#}, Min Weiping^{3,4*}¹Medical College of Nanchang University, Department of Pharmacology, Nanchang 330006, China; ²Medical College of Nanchang University, Department of Pathophysiology, Nanchang 330006, China; ³Medical College of Nanchang University, Nanchang 330006, China; ⁴Jiangxi Academy of Medical sciences, Nanchang 330006, China)

Abstract Lipoxins (LXs), metabolites of arachidonic acid, are one of the most important endogenous lipid mediators which initiate inhibition inflammatory reaction as well as promote extinction of inflammation resolution. Nowadays, many advancements have been achieved in the research of their biosynthetic pathways, biological functions and effects in hepatic diseases. This article will review the progress in the related research.

Key words lipoxins (LXs); inflammation; liver diseases

脂氧素(lipoxins, LXs)是Serhan于1984年发现的花生四烯酸(arachidonic acid, AA)的产物^[1],已被证实是炎症反应的重要“刹车信号(stop signal)”^[2]。一直以来,它由于具有抗炎和促炎症消退的双重作用而成为研究热点。近年来, LXs在肝脏疾病方面的作用备受关注。本文就LXs的基本情况及其在肝脏疾病中作用的研究进展综述如下。

1 脂氧素简介

1.1 脂氧素的结构

LXs的结构特征是分子中包含四个共轭双键

和三个羟基。根据分子中羟基位置和构象不同可分为四种: LXA4、LXB4、15-epi-LXA4和15-epi-LXB4(图1)^[3]。

1.2 脂氧素的合成与失活

LXs的合成主要是通过跨细胞途径(transcellular pathway)完成的,其具体而言主要有3条途径^[3]。第一条途径是由15-脂加氧酶(15-lipoxygenase, 15-LO)和5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LO)催化形成。AA在单核巨噬细胞、气道内皮细胞及血管上皮细胞内广泛存在的15-LO催化作用下生成15S-羟过氧化二十碳四烯酸(15S-HPETE)和15S-羟二十碳四烯酸

收稿日期: 2012-11-21 接受日期: 2012-12-25

国家自然科学基金(批准号: 81100299)、江西省自然科学基金(批准号: 20114BAB215010)和江西省卫生厅科技计划(批准号: 20122020)资助的课题

*共同第一作者

*通讯作者。Tel: 0791-86360562, E-mail: weiping.min@gmail.com

Received: November 21, 2012 Accepted: December 25, 2012

This work was supported by the National Natural Sciences Foundation of China (Grant No.81100299), the Natural Science Foundation of Jiangxi province (Grant No.20114BAB215010) and the Science and Technology Plan of Department of Health of Jiangxi Province (Grant No.20122020)

*These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-791-86360562, E-mail: weiping.min@gmail.com

网络出版时间: 2013-03-28 17:31 URL: http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130328.1731.009.html

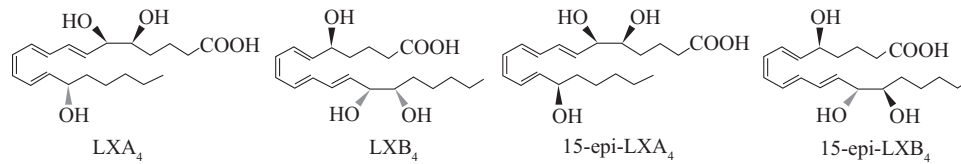


图1 LXs的分子结构式

Fig.1 Molecular structure of LXs

(15S-HETE), 而后这些细胞通过与活化的多形核白细胞(PMN)相互作用, 将15S-HPETE和15S-HETE传递给PMN, 并作为PMN中5-LO的底物合成LXs。第二条途径是由12-脂加氧酶(12-lipoxygenase, 12-LO)以及5-LO催化形成。在血管中, AA经白细胞中大量存在的5-LO催化生成白三烯(leukotriene A₄, LTA₄), 然后在P-选择素(P-selectin)的作用下, 血小板与白细胞相互黏附并发生作用, 白细胞中的LTA₄被转入血小板中, 随之被12-LO催化形成LXs。第三条途径是最近发现的经阿司匹林(acetylsalicylic acid, ASA)诱发形成途径。在细胞因子、缺氧以及细菌感染等因素的作用下, 上皮细胞和内皮细胞会表达环加氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)。ASA可使COX-2乙酰化形成乙酰化复合物并使其丧失合成前列腺素的功能转而催化AA成为15R-HERE。然后, 15R-HERE被PMN中5-LO催化合成15-立体异构体(epimer, epi)-LXs, 这也被称为ASA诱生的LXs(aspirin triggered lipoxins, ATL)^[4]。

LXs主要是经单核细胞中的15-羟基前列腺素脱氢酶(15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase, 15-PGDH)和15-氧前列腺素13-还原酶(15-oxoprostaglandin 13-reductase, PGR)作用而迅速失活^[4]。

1.3 脂氧素合成的调节

IL-4以及IL-13可促进15-LO表达并增强其活性, 从而促进LXs的生成。IL-3、GM-CSF、PDGF、血小板与白细胞的黏附均可通过促进5-LO表达而增加LXs的生成^[5]。另外, 很多时候, LXs体内的生物合成调节是双向的。例如: (1)PGE₂能够使介导LTA₄产生的5-LO的活性丧失, 同时又能够使介导LXs生成的15-LO产生活性而增加LXs合成; (2)糖皮质激素可以通过减少PMN的5-LO的转录活性而减少LXs生成, 但也可以通过增加人单核细胞的5-LO活性使LXs生成增加^[6]。

2 脂氧素受体及信号通路

2.1 脂氧素的受体结构

现有研究表明, LXs主要通过以下三种受体作用于细胞: (1)LXA₄受体(lipoxin A₄ receptor, ALX): ALX是LXs的主要作用受体, 又被称为FPR2或FPRL1。ALX具有七次跨膜结构, 属于G蛋白偶联受体超家族(G-protein coupled receptor superfamily, GPCR)成员^[7]。在人类, ALX表达于中性粒细胞、单核巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞、消化道上皮细胞等, 分布于肺、肝、脾、肠道、胎盘等多种器官^[7]。人和小鼠的ALX都由351个氨基酸残基组成, 两者在氨基酸序列上有73%的同源性^[8]。LXB₄不能与ALX结合, 推测可能与另外一种受体相作用, 但此受体尚未被克隆^[7]。(2)半胱氨酸白三烯受体1(CysLT1): CysLT包括Cys-LT1和CysLT2。ALX与CysLT有一定同源性, LXA₄可与LTD₄竞争与血管内皮细胞、肾小球系膜细胞CysLT1的结合而拮抗LTD₄的作用。LXs也可与LTC₄竞争与气道上皮细胞CysLT2的结合而拮抗LTC₄的作用^[7]。(3)芳烃受体(AhR): 新近研究发现, LXs可与肝细胞上的芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)结合, 诱导受体与地高辛反应元件(digoxin response elements, DRE)的结合并启动相应基因的表达^[7]。

2.2 脂氧素与其受体作用的相关通路

LXs与其特异性受体结合后主要通过以下几条信号通路发挥作用: (1)ERK途径: 通过促进三磷酸肌醇(inositoltriphosphate, IP₃)合成及活化蛋白激酶C, 使p42和p44磷酸化。由于丝裂原激活的蛋白激酶中ERK过度活化, 可导致cdk抑制因子蛋白(p27)的表达与DNA的合成受到抑制。(2)p38途径: 通过活化PLA₂、PLD使rac活化, 使p38磷酸化。p38蛋白磷酸化可使细胞膜磷脂结构重排, 产生磷脂酸, 不启动IP₃, 不增加细胞内Ca²⁺及cAMP。(3)JNK途径:

GPCR活化应激活的蛋白激酶(sAPK)/c-Jun N-末端激酶(JNK)而发挥效应。(4)多萜醇磷酸(PIPP)途径: 作用于PIPP中的前角鲨烯二磷酸(PSDP), 使PSDP重构而积聚, 抑制PMN的活性及功能。此外, 新近研究表明, LXs的抗炎效应与细胞因子信号传递阻抑蛋白(suppressor of cytokine signaling, SOCS)也有密切关系^[9]。在小鼠缺血肾脏, LXs类似物可升高SOCS-1和SOCS-2 mRNA的表达水平, 从而抑制相应的炎症反应。另外, 体外实验也证实, LXs可诱导小鼠脾脏树突状细胞SOCS-2的表达^[10]。通过剔除SOCS-2的基因实验则进一步证实, SOCS-2介导了LXs对树突状细胞IL-12表达的抑制效应^[11]。与此同时, 该研究也证实, LXs及其类似物发挥抗炎作用呈SOCS-2依赖性。

3 脂氧素的生物学作用

LXs作为参与机体防御反应的重要组成分子之一, 在抗炎及促炎症消退中发挥重要的作用。LXs对体内各种细胞所起的作用分别如下: (1)中性粒细胞(polymorphonuclear, PMN)^[12]: LXs抑制PMN的聚集和化学趋化作用, 阻断TNF- α 引起的超氧阴离子产生, 减少PMN表面CD11b/CD18的表达, 减少肌醇三磷酸的产生, 抑制L-选择素(L-selectin)的脱落, 从而抑制PMN与血管内皮细胞、上皮细胞的粘附与跨细胞运动。(2)巨噬细胞(macrophages, M ϕ)^[12-13]: LXs能够促进M ϕ 及时吞噬凋亡的中性粒细胞, 抑制NF- κ B和AP-1在核内聚集, 显著减少炎性细胞因子的释放。LXs还能促进巨噬细胞向炎症部位聚集并增强其非炎性吞噬作用。(3)血管内皮细胞^[13]: LXA4及其类似物可抑制VEGF及LTD4引起的血管内皮细胞增殖和血管生成。LXs还可抑制P-选择素的表达从而抑制白细胞与内皮细胞的黏附。(4)成纤维细胞^[12]: LXs可抑制IL-1 β 引起滑膜成纤维细胞合成IL-6、IL-8及基质金属蛋白酶-3(MMP-3), 减少滑膜炎反应及组织破坏。(5)上皮细胞^[12]: LXA4可抑制肠上皮细胞分泌IL-8及病原诱生上皮细胞趋化因子, 从而抑制其对PMN的趋化作用。另外, LXA4及其类似物还可抑制TNF- α 引起的PMN与肠上皮细胞的黏附, 抑制TNF- α 引起的肠上皮细胞分泌IL-8及肠上皮细胞的凋亡。

4 脂氧素与肝脏疾病的关系

LXs作为炎症反应的“终止信号”, 目前有大量

研究显示其在肝脏疾病中也起着重要作用。有文献报道肝脏中有大量LXs前体, 并且在肝脏损伤时可以检测到大量LXA4生成^[14]。因此, LXs在肝脏疾病中的作用越来越受到关注。

4.1 脂氧素与肝损伤

已有研究表明, LXs在肝损伤过程中发挥着抗炎、护肝的重要作用。Zhang等^[15]研究发现, LXA4受体激动剂BML-111能显著减轻四氯化碳造成的肝脏组织病理学损伤、减少血清谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)的表达以及肝组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)的表达、降低血清TNF- α 的浓度水平、增加肝血红素氧化酶1(heme oxygenase 1, HO-1)的表达。该研究结果提示我们, BML-111在急性肝损伤中的保护作用主要是通过促进抗氧化蛋白的表达而抑制炎症反应发挥的。另外, 姜雪强等^[16]发现, 给予LXA4腹腔注射能显著缓解D-氨基半乳糖(D-GalN)+脂多糖(LPS)造成的大鼠急性肝衰竭。该研究发现, 给予LXA4治疗组较大鼠急性肝衰竭模型组组织学病变明显好转, 肝脏转氨酶ALT、AST水平明显下降, IL-6及TNF- α 等细胞因子水平明显下降, NF- κ B的活化明显减少。此研究结果说明LXA4护肝作用的发挥部分是通过阻断肝组织NF- κ B的活化, 减少促炎细胞因子TNF- α 的释放来实现的。另外, Zhang等^[17]通过研究发现, 腹腔注射LXA4受体激动剂BML-111可以促进四氯化碳损伤的小鼠肝组织中IL-10mRNA表达、升高血浆IL-10浓度。而应用抗-IL-10中和抗体则可明显削弱BML-111对肝组织损伤及血清转氨酶水平的抑制作用, 且这一效应伴有血浆TNF- α 浓度的升高。该研究表明, IL-10是介导BML-111发挥保肝效应的重要细胞因子。以上研究结果均表明, LXs可作为护肝的潜在药物。

4.2 脂氧素与非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝(NAFLD)是由胰岛素耐受引起的代谢综合症, 其特点是体内必需脂肪酸打破了促炎/抗炎因子平衡而引发机体的轻度炎症反应, 表现为体内TNF- α 、IL-6水平升高。TNF- α 可引起胰岛素耐受, 是引发NAFLD的一个重要因素^[18]。研究表明, LXs可以抑制IL-6的产生并诱导TNF- α mRNA的降解, 减轻NAFLD的炎症反应及胰岛素耐受^[18]。更重要的是, 有文献报道LXs可以抑制炎性刺激引起的促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的表达, 同

时还可以上调抗炎细胞因子IL-10、TGF- β 1的表达,从而调节抗炎/促炎因子平衡^[19]。上述研究表明,LXs在减轻NAFLD的炎症反应和调节抗炎/促炎因子平衡中发挥了重要的作用。因此,LXs及其类似物有望被用于NAFLD的预防及诊断。

4.3 脂氧素与肝癌

目前,越来越多的学者认为肝癌是肝脏慢性炎症不能及时消退的结果。肝癌的发生与慢性肝炎相关,而肝炎炎症的微环境在肿瘤的发生、发展和转移中发挥重要作用。LXs作为炎症反应的终止信号,被证实具有抗肝癌作用。Hao等^[20]通过体外实验证实,LXA4不仅可以促进HepG2肝癌细胞的凋亡,还可以抑制LPS或激活的巨噬细胞条件培养基(ACM)诱导Nucleostemin(NS)及NF- κ Bp65的表达从而抑制HepG2肝癌细胞增殖。另外,他们还通过体内实验证实LXA4受体激动剂BML-111可以抑制HepG2肝癌细胞的增殖及侵袭。该研究提出,LXA4可能是通过影响NF- κ B及JNK等信号通路,从而抑制肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)的活性而发挥抗肝癌作用的。另外,Zhou等^[21]发现,LXA4及其受体激动剂BML-111可以显著抑制HGF诱导HepG2肝癌细胞迁移和侵袭。该研究表明,LXA4及BML-111不仅可以抑制HGF诱导HepG2肝癌细胞中COX-2、MMP-2及MMP-9表达的增加,还可以抑制HGF诱导I κ B降解以及NF- κ B转录。该研究结果表明,LXA4及BML-111可能是通过阻断NF- κ B/COX-2信号通路来发挥其对HGF诱导HepG2肝癌细胞迁移和侵袭的抑制作用的。有研究发现,LXA4可以抑制H22肝癌细胞中血管内皮因子的产生,并降低组织缺氧诱导因子-1 α 的浓度水平。BML-111则可降低接种有H22肝癌细胞小鼠血清中血管内皮因子的产生。另外,BML-111还可抑制体内肿瘤相关的血管生成以及肿瘤生长^[22]。以上实验结果均提示LXs在干扰肝癌生长、侵袭及转移方面扮演重要角色。

5 脂氧素的应用前景

LXs具有强大的抗炎及促炎症消退作用,参与了多种人类疾病的病理生理过程。随着对其在肝脏疾病研究的深入,其生物学活性以及相关机制将逐渐得到阐释。当然,LXs的作用不仅仅限于肝脏疾病,它还可以应用于很多其他疾病。因此,对LXs作用的研究是一项巨大而有意义的工作。我们相信随着

对LXs作用研究的不断深入,必将对LXs有一个更加全面的认识,这将为以后的临床应用提供更为有效和更有价值的依据。

参考文献 (References)

- 1 Serhan CN, Hamberg M, Samuelsson B. Lipoxins: Novel series of biologically active compounds formed from arachidonic acid in human leukocy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(17): 5335-9.
- 2 Serhan CN, Chiang N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: Entrée for resolomics. *Rheum Dis Clin North Am* 2004; 30(1): 69-95.
- 3 Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: An update and role in anti-inflammation and pro-resolution. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002; 68/69: 433-55.
- 4 Romano M. Lipoxin and aspirin-triggered lipoxins. *Sci World J* 2010; 2(10): 1048-64.
- 5 McMahon B, Godson C. Lipoxins: Endogenous regulators of inflammation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286(2): F189-201.
- 6 Levy BD, Clish CB, Schmidt B, Gronert K, Serhan CN. Lipid mediator classes wicking during acute inflammation: Signals in resolution. *Nat Immunol* 2001; 2(7): 612-9.
- 7 Brink C, Dahlén SE, Drazen J, Evans JF, Hay DW, Nicosia S, *et al.* International Union of Pharmacology XXXVII. Nomenclature for leukotriene and lipoxin receptors. *Pharmacol Rev* 2003; 55(1): 195-227.
- 8 Chiang N, Serhan CN, Dahlén SE, Drazen JM, Hay DW, Rovati GE, *et al.* The lipoxin receptor ALX: Potent ligand-specific and stereoselective actions *in vivo*. *Pharmacol Rev* 2006; 8(3): 463-87.
- 9 Leonard MO, Hannan K, Burne MJ, Lappin DW, Doran P, Coleman P, *et al.* 15-Epi-16-(parafluorophenoxy)-lipoxinA(4)-methyl ester, a synthetic analogue of 15-epi-lipoxin A(4), is protective in experimental ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(6): 1657-62.
- 10 McBerry C, Gonzalez RM, Shryock N, Shryock N, Dias A, Aliberti J. SOCS2-induced proteasome-dependent TRAF6 degradation: A common anti-inflammatory pathway for control of innate immune responses. *PLoS One* 2012; 7(6): 1-12.
- 11 Machado FS, Johndrow JE, Esper L, Dias A, Bafica A, Serhan CN, *et al.* Anti-inflammatory actions of lipoxinA4 and aspirin-triggered lipoxin are SOCS-2 dependent. *Nat Med* 2006; 12(3): 330-4.
- 12 Yacoubian S, Serhan CN. New endogenous anti-inflammatory and pro-resolving lipid mediators: Implications for rheumatic diseases. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2007; 3(10): 570-9.
- 13 Hutchinson JL, Rajagopal SP, Sales KJ, Jabbour HN. Molecular regulators of resolution of inflammation: Potential therapeutic targets in the reproductive system. *Reproduction* 2011; 14(1): 15-28.
- 14 Esther T, Claria J, Planaguma A, López-Parra M, González-Pérez A, Gaya J, *et al.* Inhibition of 5-lipoxygenase-activating protein abrogates experimental liver injury: Role of Kupffer cells. *J Leukoc Biol* 2005; 78(4): 871-8.
- 15 Zhang L, Wan J, Li H, Wu P, Jin S, Zhou X, *et al.* Protective ef-

- fects of BML-111, a lipoxin A4 receptor agonist, on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Hepato Res* 2007; 37(11): 948-56.
- 16 姜雪强, 邹小静, 田德英. 脂氧素A4对大鼠急性肝衰竭的保护作用. *中国组织化学与细胞化学杂志*(Jiang Xueqiang, Zou Xiaojing, Tian Deying. Protective effect of lipoxin A4 on acute liver failure in rats. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*) 2010; 19(6): 542-9.
- 17 张力, 万敬员, 段红, 罗福玲, 代先坤. 白介素-10表达上调介导脂氧素在急性肝损伤中的保护效应. *医学分子生物学杂志*(Zhang Li, Wan Jingyuan, Duan Hong, Luo Fuling, Dai Xiankun. Up-regulation of interleukin-10 mediates the protective effects of lipoxin on acute liver injury. *J Med Mol Biol* 2008; 5(3): 225-8.
- 18 Das UN. A defect in the activities of $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturases and pro-resolution bioactive lipids in the pathobiology of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Diabetes* 2011; 2(11): 176-88.
- 19 Jin H, Li YH, Xu JS, Guo GQ, Chen DL, Bo Y. Lipoxin A4 analog attenuates morphine antinociceptive tolerance, withdrawal-induced hyperalgesia, and glial reaction and cytokine expression in the spinal cord of rat. *Neuroscience* 2012; 208: 1-10.
- 20 Hao H, Liu M, Wu P, Cai L, Tang K, Yi P, *et al.* Lipoxin A4 and its analog suppress hepatocellular carcinoma via remodeling tumor microenvironment. *Cancer Lett* 2011; 309(1): 85-94.
- 21 Zhou XY, Li YS, Wu P, Wang HM, Cai ZY, Xu FY, *et al.* Lipoxin A4 inhibited hepatocyte growth factor-induced invasion of human hepatoma cells. *Hepato Res* 2009; 39(9): 921-30.
- 22 Chen Y, Hao H, He S, Cai L, Li Y, Hu S, *et al.* Lipoxin A4 and its analogue suppress the tumor growth of transplanted H22 in mice: the role of antiangiogenesis. *Mol Cancer Ther* 2010; 9(8): 2164-74.