

· 综述 ·

核因子 κ B 活化在脓毒症所致心肌损伤中的作用

周浩 王广庆 罗鹏飞 夏照帆

Role of nuclear factor- κ B activation in sepsis-induced myocardial dysfunction Zhou Hao, Wang Guangqing, Luo Pengfei, Xia Zhaofan. Department of Burn Surgery, Institute of Burns, Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Xia Zhaofan, Email: xiazhaofan@163.com

【Abstract】 As a common complication in patients with sepsis, cardiac dysfunction may significantly increase mortality of these patients, but its mechanism is still unclear. Nuclear factor- κ B (NF- κ B) is a pleiotropic transcription inducing factor, which involves in the regulation of multiple biological phenomena and disease status. NF- κ B activation participates in cardiomyocyte apoptosis, cardiomyocyte autophagy, and release of inflammatory cytokines in patients with sepsis, indicating its important role in sepsis-induced myocardial dysfunction.

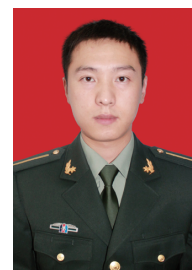
【Key words】 NF-kappa B; Sepsis; Cardiomyopathies; Apoptosis; Autophagy; Inflammatory cytokine

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81501645); Funds for International Cooperation and Exchange of the National Natural Science Foundation of China (81120108015); Major Program of Military Applied Basic Research (AWS14C001)

【关键词】 NF- κ B; 脓毒症; 心肌疾病; 细胞凋亡; 自噬; 炎性细胞因子

基金项目:国家自然科学基金(81501645);国家自然科学基金国际(地区)合作与交流项目(81120108015);军队应用基础研究重大项目(AWS14C001)

脓毒症是危重患者的重要死亡原因之一^[1],出现心肌损伤和心功能异常的脓毒症患者病死率显著升高^[2]。目前脓毒症所致心肌损伤的发病机制尚不十分清楚,但普遍认为其与心肌细胞凋亡、心肌细胞自噬以及心肌组织的炎症反应有关。NF- κ B 信号传导通路在上述 3 个病理生理过程的调控中发挥重要作用。NF- κ B 是一种调控基因表达的转录因子,它由不同亚基构成的同源或异源二聚体组成,这些亚基包括 RelA(p65)、RelB、c-Rel、p50 及其前体 p105、p52 及其前体 p100。正常细胞中 NF- κ B 二聚体与 NF- κ B 抑制蛋白(I κ B)相结合,以无活性形式分布于细胞质中。当脓毒症发生时,革兰阴性菌释放的 LPS 与细胞膜表面的 Toll 样受体相结合,刺激信号传入细胞内,引起 I κ B 降解并活化 NF- κ B,并使其移位至细胞核,以调控与细胞凋亡、细胞自噬及炎性细胞因子相关基因的表达^[3]。

1 NF- κ B 活化与脓毒症所致心肌细胞凋亡

脓毒症患者心肌细胞凋亡水平显著提高,而心肌细胞凋亡是脓毒症患者心肌损伤的重要原因之一^[4]。Zhang 等^[5]研究表明,脓毒症小鼠心肌内细胞凋亡过程的关键酶半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3、8、9 激活水平提高,心肌细胞凋亡水平也显著提高,而抗凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤 2(Bcl-2)的表达减少。心肌细胞凋亡的异常增加将导致心肌细胞缺失,心肌细胞是一种终末分化细胞,如果大量缺失,将导致心肌收缩功能下降、心脏射血分数降低。NF- κ B 在脓毒症所致心肌损伤中参与调控多种凋亡相关基因的表达,可促进/抑制细胞凋亡。LPS 能够活化 NF- κ B,但不同剂量的 LPS 对心肌细胞产生的作用不同。在 LPS 诱导小鼠心肌损伤的研究中观察到,大剂量的 LPS(20 mg/kg)活化 NF- κ B 有利于促凋亡基因的表达,引起心肌细胞凋亡^[6];而关于小鼠心肌缺血再灌注损伤的研究表明,亚致死剂量的 LPS(1.0 mg/kg)活化 NF- κ B,有利于抗凋亡基因的表达,可以减轻心肌缺血再灌注损伤^[7]。这种差异可能是由于组成 NF- κ B 二聚体的亚基不同所致。

Sarnico 等^[8]在神经细胞中观察到,由 p50/RelA 异源二聚体组成的 NF- κ B 活化时,诱导 Bim、Noxa 等促凋亡基因的表达;由 c-Rel 同源二聚体组成的 NF- κ B 活化时,诱导 Bcl-xL 等抗凋亡基因的表达。异源二聚体组成的 NF- κ B 活化时,可导致 TNF- α 、Fas 配体的合成和分泌增多,同时促进 Fas、TNF、TGF 受体等心肌上凋亡相关受体的表达。TNF- α 与心肌细胞表面相应受体结合,可启动心肌线粒体凋亡通路^[9]。该通路启动后,心肌线粒体上通透性转运孔广泛开放,导致线粒体破裂,其内容物细胞色素 C、凋亡因子等转移至细胞质中,诱导心肌细胞凋亡^[10]。此外,线粒体损伤后释放的线粒体抗病毒信号蛋白可导致 NF- κ B 活化,进一步加重心肌细胞凋亡。同源二聚体 NF- κ B 活化能上调 Bcl-2、Bcl-xL 等多种抗凋亡蛋白的表达,具有抗心肌细胞凋亡的作用,其中 Bcl-2 是第 1 个被确认具有抗凋亡作用的基因,其产生的抗凋亡蛋白能与促凋亡蛋白 Bax、Bak 相结合形成异源二聚体,当 Bcl-2 含量高于 Bax,则促进 Bcl-2/Bax 异源二聚体的形成,并使 Bcl-2 同源二聚体的量增多,从而抑制心肌细胞凋亡,保护心肌功能^[7]。

2 NF- κ B 活化与脓毒症所致心肌细胞自噬

自噬是一种由保守基因调控的溶酶体依赖性降解途径,其主要通过自噬小体的形式对细胞内受损的蛋白质和细胞器进行消化,并释放出可供机体利用的物质,进行细胞代谢和某些细胞器的更新^[11]。多位学者观察到脓毒症所致心肌损伤中心肌细胞自噬增加,发挥重要的心肌保护作用^[12]。其主要机制为:(1)心肌细胞可以通过自噬清除细胞质中损伤的线粒体,从而减少细胞色素 C 等促进细胞凋亡物质的释

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.12.014

作者单位:200433 上海,海军军医大学长海医院烧伤外科,全军烧伤研究所

通信作者:夏照帆,Email:xiazhaofan@163.com

放,减少心肌细胞凋亡。(2)心肌细胞通过自噬清除心肌细胞内入侵的病原微生物及其代谢产物,从而保护心肌。(3)脓毒症等炎症刺激可以诱导自噬的发生,而自噬通过抑制炎症细胞因子 IL-1 β 的产生,抑制过度的炎症反应,从而发挥心肌细胞保护作用^[13]。

脓毒症时心肌细胞自噬发生障碍或受到抑制可导致心肌线粒体损伤加重、细胞凋亡增加、炎症反应加重,最终导致心肌损伤。Hsieh 等^[14]观察到,脓毒症大鼠心肌细胞中自噬泡数量明显增多,而自噬溶酶体数量增加不明显,提示心肌细胞自噬发生过程自噬泡向自噬溶酶体转化障碍,自噬受阻。给予自噬诱导剂雷帕霉素促进心肌细胞自噬后,脓毒症大鼠心肌损伤减轻,提示自噬对脓毒症所致心肌损伤具有保护作用。而当自噬过度激活时,心肌细胞在短时间内裂解,数量显著减少,进而导致心肌损伤^[15]。

NF- κ B 活化后可以促进/抑制细胞自噬。T 淋巴细胞自噬相关基因 Beclin-1 的启动子元件含有 NF- κ B 结合位点, p65/RelA 异源二聚体组成的 NF- κ B 可上调 Beclin-1 的基因和蛋白质水平,促进细胞自噬^[16]。饥饿诱导人宫颈癌细胞自噬的研究表明, NF- κ B 活化后可以磷酸化 Bcl-2, 并使其从 Bcl-2/Beclin-1 自噬抑制复合体中释放出来,从而促进细胞自噬^[17]。有研究显示饥饿刺激通过 NF- κ B 信号传导通路中的 I κ B 激酶 (IKK) 途径, 上调 Lc3、Atg5、Beclin-1 等自噬相关基因的表达, 进而促进细胞自噬^[18]。然而另有研究显示, 活化的 NF- κ B 二聚体可通过丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 B 途径激活自噬核蛋白哺乳动物雷帕霉素靶蛋白, 从而发挥抑制自噬的作用^[19]。以上结果提示 NF- κ B 活化与细胞自噬之间相互作用的复杂性。在脓毒症所致心肌损伤中, 有关 NF- κ B 活化对心肌细胞自噬的调节机制尚不清楚。但关于脓毒症大鼠脑损伤的研究表明, 大鼠海马体内神经细胞自噬过程可被 NF- κ B 活化所阻止, 进而在脓毒症脑损伤中起神经保护作用^[20]。由此可见, NF- κ B 活化在脓毒症所致心肌损伤中也可能抑制了心肌细胞自噬。然而大量研究表明, 脓毒症所致心肌损伤中心肌细胞自噬显著增多^[12], 可推测有其他信号通路参与了对心肌细胞自噬的调节。

3 与 NF- κ B 相关炎症细胞因子表达在脓毒症所致心肌损伤中的作用

脓毒症所致心肌损伤与炎症细胞因子有关。Parrillo 等^[21]最早证实了脓毒症发生时外周循环存在着大量心功能抑制因子, 目前的研究表明这些心功能抑制因子主要是 TNF- α 、IL-1 β 等炎症细胞因子^[22]。脓毒症患者和脓毒症小鼠体内 TNF- α 、IL-1 β 含量异常增高^[23]。Lin 等^[24]观察到脓毒症患者的血清可以剂量依赖性地抑制心肌细胞的收缩功能, 而用免疫吸附法去除血清中 TNF- α 或 IL-1 β 后, 这些血清则部分丧失了对心肌细胞的抑制作用。然而, 单独阻断某个炎症细胞因子并不能完全逆转心肌细胞病理生理学改变。同样, 临床上单独使用 TNF- α 或 IL-1 β 阻断剂也不能降低脓毒症患者的病死率^[25]。当 TNF- α 、IL-1 β 同时存在并发生协同作用时, 其抑制心肌收缩力的浓度是两者单独作用时的 50 ~ 100 倍^[26]。

TNF- α 、IL-1 β 对脓毒症患者心肌的抑制作用部分依赖

一氧化氮途径。一氧化氮阻断剂可以阻断 TNF- α 、IL-1 β 对心肌的抑制作用^[27]。进一步研究表明, 抑制诱导型 NOS 基因的表达, 可以减轻 LPS 所致心肌细胞收缩和舒张功能障碍^[28]。NOS 可大量产生一氧化氮, 而一氧化氮可能通过以下 3 个方面抑制心肌收缩力: (1) 一氧化氮可促进心肌 β 肾上腺素受体的表达并降低其反应性。(2) 一氧化氮可通过抑制心肌细胞的兴奋收缩耦联机制, 影响心肌纤维对钙离子的敏感性。(3) 一氧化氮与超氧阴离子相互作用生成过氧亚硝基阴离子, 高浓度的过氧亚硝基阴离子能破坏心肌细胞内蛋白质结构, 产生强烈的细胞毒性作用。

NF- κ B 在心肌损伤的炎症反应过程中处于各种炎症细胞因子调控的中心环节, 并在脓毒症患者中作为转录诱导因子参与调控大量炎症细胞因子基因的表达。心肌细胞上存在着完整的天然免疫信号传导系统, 有研究表明心肌细胞上表达一系列 Toll 样受体 (TLR), 如 TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9 等^[29]。LPS 经心肌细胞表面 TLR 激活细胞内 NF- κ B 信号传导通路, 产生 TNF- α 、IL-1 β 等炎症细胞因子, 这些炎症细胞因子又可进一步激活 NF- κ B 信号传导通路, 造成瀑布式级联反应, 引起失控性炎症反应。Rameshrad 等^[30]观察到, LPS 可通过激活大鼠离体心肌上 TLR4 受体, 促进炎症细胞因子 TNF- α 的产生。而阻断离体心肌内 NF- κ B 信号传导通路可以降低心肌内的 TNF- α 水平^[31], 通过抑制小鼠心肌内 IKK 活性, 特异性阻断小鼠心肌内 NF- κ B 活化, 可改善 LPS 所诱导的心肌抑制^[32]。Haudek 等^[33]观察到, 小鼠心肌细胞上过表达非降解性 I κ B α 可阻断 NF- κ B 活化, 减轻 LPS 所诱导的心肌收缩力抑制。

4 小结

综上所述, 脓毒症时, 外源性病原微生物或内源性炎症细胞因子通过与心肌细胞表面 TLR 相结合, 从而激活细胞内 NF- κ B 信号传导通路, NF- κ B 活化后通过心肌细胞凋亡、心肌细胞自噬以及心肌局部炎症反应影响心肌功能, 造成心肌损伤。但在不同动物实验中, NF- κ B 活化后往往产生相互矛盾的结果, 如 NF- κ B 活化可同时抑制和促进心肌细胞凋亡。心肌细胞凋亡、自噬以及炎症反应是单纯受 NF- κ B 信号通路影响, 还是其他细胞信号传导通路共同作用, 仍待明确。在脓毒症中, 心肌细胞凋亡、自噬以及炎症反应之间的相互作用尚不明确。因此, 目前 NF- κ B 活化在脓毒症所致心肌损伤中的作用并不十分清楚, 仍需进行大量基础研究。

参考文献

- [1] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8): 775-787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289.
- [2] Alvarez S, Vico T, Vanasco V. Cardiac dysfunction, mitochondrial architecture, energy production, and inflammatory pathways: interrelated aspects in endotoxemia and sepsis [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2016, 81(Pt B): 307-314. DOI:10.1016/j.biocel.2016.07.032.
- [3] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology [J]. Cell, 2017, 168

- (1/2); 37-57. DOI:10.1016/j.cell.2016.12.012.
- [4] Makara MA, Hoang KV, Ganesan LP, et al. Cardiac electrical and structural changes during bacterial infection: an instructive model to study cardiac dysfunction in sepsis [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5 (9): e003820. DOI: 10.1161/JAHA.116.003820.
- [5] Zhang X, Zhang X, Xiong Y, et al. Sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel protects cardiac myocytes against lipopolysaccharide-induced apoptosis [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38 (3): 758-766. DOI:10.3892/ijmm.2016.2664.
- [6] Wang Y, Wang Y, Yang D, et al. β_1 -adrenoceptor stimulation promotes LPS-induced cardiomyocyte apoptosis through activating PKA and enhancing CaMKII and I κ B α phosphorylation [J]. *Crit Care*, 2015, 19: 76. DOI:10.1186/s13054-015-0820-1.
- [7] Yao YW, Zhang GH, Zhang YY, et al. Lipopolysaccharide pretreatment protects against ischemia/reperfusion injury via increase of HSP70 and inhibition of NF- κ B [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2011, 16 (3): 287-296. DOI:10.1007/s12192-010-0242-6.
- [8] Sarnico I, Branca C, Lanzillotta A, et al. NF- κ B and epigenetic mechanisms as integrative regulators of brain resilience to anoxic stress [J]. *Brain Res*, 2012, 1476:203-210. DOI:10.1016/j.brainres.2012.04.013.
- [9] Cimolai MC, Alvarez S, Bode C, et al. Mitochondrial mechanisms in septic cardiomyopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (8): 17763-17778. DOI: 10.3390/ijms160817763.
- [10] 金善子,王胜. 线粒体通透性转换孔在脓毒症心肌抑制发生过程中的作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (8): 747-751.
- [11] Cordani M, Butera G, Pacchiana R, et al. Molecular interplay between mutant p53 proteins and autophagy in cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1867 (1): 19-28. DOI: 10.1016/j.bbcan.2016.11.003.
- [12] 赵品,高金鉴,姜静,等. 脂多糖诱导脓毒症小鼠心肌细胞及线粒体自噬 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32 (2): 177-181. DOI:10.13423/j.cnki.cjmi.007651.
- [13] 王星童,李恒宇,夏照帆. 自噬与脓毒症肺损伤间关系的研究进展 [J]. *中华烧伤杂志*, 2014, 30 (4): 325-328. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2014.04.008.
- [14] Hsieh CH, Pai PY, Hsueh HW, et al. Complete induction of autophagy is essential for cardioprotection in sepsis [J]. *Ann Surg*, 2011, 253 (6): 1190-1200. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3-18214b67e.
- [15] Maejima Y, Chen Y, Isobe M, et al. Recent progress in research on molecular mechanisms of autophagy in the heart [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 308 (4): H259-268. DOI: 10.1152/ajpheart.00711.2014.
- [16] Copetti T, Bertoli C, Dalla E, et al. p65/RelA modulates BECN1 transcription and autophagy [J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29 (10): 2594-2608. DOI:10.1128/MCB.01396-08.
- [17] Lewis AJ, Billiar TR, Rosengart MR. Biology and metabolism of sepsis: innate immunity, bioenergetics, and autophagy [J]. *Surg Infect (Larchmt)*, 2016, 17 (3): 286-293. DOI:10.1089/sur.2015.262.
- [18] Comb WC, Cogswell P, Sitcheran R, et al. IKK-dependent, NF- κ B-independent control of autophagic gene expression [J]. *Oncogene*, 2011, 30 (14): 1727-1732. DOI: 10.1038/onc.2010.553.
- [19] Gao H, Lin L, Haq IU, et al. Inhibition of NF- κ B promotes autophagy via JNK signaling pathway in porcine granulosa cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473 (1): 311-316. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.03.101.
- [20] Su Y, Qu Y, Zhao F, et al. Regulation of autophagy by the nuclear factor κ B signaling pathway in the hippocampus of rats with sepsis [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12: 116. DOI: 10.1186/s12974-015-0336-2.
- [21] Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, et al. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance [J]. *J Clin Invest*, 1985, 76 (4): 1539-1553. DOI: 10.1172/JCI112135.
- [22] 计鹏,胡大海,杨晨,等. 重度烧伤并发脓毒症 64 例血清 TNF- α , IL-1 β , IL-6 水平测定及其相关性分析 [J]. *陕西医学杂志*, 2016, 45 (9): 1173-1174. DOI:10.3969/j.issn.1000-7377.2016.09.032.
- [23] Hunter JD, Doddi M. Sepsis and the heart [J]. *Br J Anaesth*, 2010, 104 (1): 3-11. DOI:10.1093/bja/aep339.
- [24] Lin CM, Chen CR, Wu XQ, et al. Effects of blood purification on serum levels of inflammatory cytokines and cardiac function in a rat model of sepsis [J]. *Blood Purif*, 2017, 44 (1): 40-50. DOI:10.1159/000455060.
- [25] Hattori Y, Hattori K, Suzuki T, et al. Recent advances in the pathophysiology and molecular basis of sepsis-associated organ dysfunction: novel therapeutic implications and challenges [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 177: 56-66. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.040.
- [26] Suzuki T, Suzuki Y, Okuda J, et al. Sepsis-induced cardiac dysfunction and β -adrenergic blockade therapy for sepsis [J]. *J Intensive Care*, 2017, 5: 22. DOI:10.1186/s40560-017-0215-2.
- [27] Cain BS, Meldrum DR, Dinarello CA, et al. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta synergistically depress human myocardial function [J]. *Crit Care Med*, 1999, 27 (7): 1309-1318.
- [28] Huang C, Tong L, Lu X, et al. Methylene blue attenuates iNOS induction through suppression of transcriptional factor binding amid iNOS mRNA transcription [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116 (8): 1730-1740. DOI:10.1002/jcb.25132.
- [29] Vaez H, Rameshrad M, Najafi M, et al. Cardioprotective effect of metformin in lipopolysaccharide-induced sepsis via suppression of toll-like receptor 4 (TLR4) in heart [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 772:115-123. DOI:10.1016/j.ejphar.2015.12.030.
- [30] Rameshrad M, Maleki-Dizaji N, Vaez H, et al. Lipopolysaccharide induced activation of Toll like receptor 4 in isolated rat heart suggests a local immune response in myocardium [J]. *Iran J Immunol*, 2015, 12 (2): 104-116. DOI: IJIV12i2A3.
- [31] Zhang J, Zhu D, Wang Y, et al. Andrographolide attenuates LPS-induced cardiac malfunctions through inhibition of I κ B phosphorylation and apoptosis in mice [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37 (4): 1619-1628. DOI: 10.1159/000438528.
- [32] Wu H, Liu J, Li W, et al. LncRNA-HOTAIR promotes TNF- α production in cardiomyocytes of LPS-induced sepsis mice by activating NF- κ B pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 471 (1): 240-246. DOI:10.1016/j.bbrc.2016.01.117.
- [33] Haudek SB, Spencer E, Bryant DD, et al. Overexpression of cardiac I-kappaBalpha prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280 (3): H962-968.

(收稿日期:2017-09-27)

(本文编辑:牟乾静)

本文引用格式

周浩,王广庆,罗鹏飞,等. 核因子 κ B 活化在脓毒症所致心肌损伤中的作用 [J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33 (12): 782-784. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.12.014.

Zhou H, Wang GQ, Luo PF, et al. Role of nuclear factor- κ B activation in sepsis-induced myocardial dysfunction [J]. *Chin J Burns*, 2017, 33 (12): 782-784. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.12.014.