

血红素加氧酶 1 在创伤应激中的保护机制及其研究进展

温 晴 周敬杰 李红丽

摘 要 血红素加氧酶 1(HO-1)是分解血红素的关键酶,已有的研究显示 HO-1 及其催化产物具有抗氧化、抗凋亡、抗炎、抗衰老、促进血管生成等细胞保护作用,在机体各种创伤应激下能够起到很好的抵御作用。本文对 HO-1 的生物特性、生理学效应及其在创伤应激中发挥作用的相关信号通路进行综述。

关键词 血红素加氧酶 1 创伤应激

中图分类号 R641

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.11.002

血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)是细胞受到外界刺激后诱导性表达的一种分解血红素的关键酶,广泛存在于人和哺乳动物体内。HO-1 基因在氧化应激条件下能够被诱导表达,其确切机制尚不清楚。HO-1 具有抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗衰老、减轻细胞损伤、促进血管生成等作用,提示 HO-1 在机体应对各种应激、损伤刺激时具有自我保护作用。例如在难愈性创面,高氧化应激水平加重对细胞组织的损害,造成创面的经久不愈。如果能提高机体 HO-1 的表达,那么将提高干预疾病发展进程的能力,对治愈大量创伤应激时氧化损伤引起的疾病也是一个重大的突破。本文从 HO-1 的生物学特性、功能、与功能相关的信号通路方面进行阐述,着重阐述 HO-1 对各种创伤应激的影响。

一、HO-1 的生物学特性

1968 年 Tenhunen 等^[1]首次发现存在于细胞微粒体中的 HO,迄今为止已发现 HO 的 3 种同工酶:HO-1、HO-2、HO-3。HO-1 的编码基因位于染色体 22q12,是相对分子质量为 32000 的微粒体蛋白,结构与热休克蛋白 32 相同。HO-1 具有将血红素氧化降解为一氧化碳(CO)、自由铁(Fe^{2+})和胆绿素(biliverdin, BV)的能力, BV 迅速被还原为胆红素(bilirubin, BR)。HO-1 为诱导型,激活剂有血红素、炎性刺激、低氧、高氧、内毒素、应激、紫外线照射等;

抑制剂为多数金属卟啉(如锌原卟啉、锡原卟啉等)^[2,3]。HO-2、HO-3 均为结构型。HO-2 基因位于染色体 16p13.3,相对分子质量为 36000,主要分布于大脑、视网膜和睾丸等器官组织中,以睾丸含量最高,在生理状态下调节血红素分解和调控神经系统。HO-2 的表达不受氧化应激等因素的诱导,大多数病理状态下无明显变化,目前认为只有糖皮质激素能调节 HO-2 的表达^[4,5]。HO-3 结构与 HO-2 十分相似,相对分子质量为 33000,也存在于大多数的组织细胞中,但目前关于 HO-3 的研究甚少,其功能研究尚不十分清楚^[5]。

二、HO-1 的功能

1. 抗氧化、减轻细胞损伤作用:Keyse 等^[6]发现在紫外线、过氧化氢和亚硝酸钠引起的氧化应激条件下,人皮肤成纤维细胞被诱导表达 HO-1,并于 1989 年提出 HO-1 可能在氧化应激条件下对细胞起保护作用。当血红素与分子氧反应时,可催化产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),提高机体氧化应激水平。HO-1 通过酶促反应清除血红素这一潜在的毒性物质,在此过程消耗分子氧,间接减少 ROS 产生,减轻细胞氧化应激,起细胞保护效应。同时,HO-1 能直接抑制 ROS 的产生,从而达到抗氧化、减轻细胞损伤的目的^[7]。不仅如此,关于 HO-1 的催化产物的研究表明,HO-1 产物也具有减轻细胞损伤的作用。产物 BV 被胆绿素还原酶迅速转化成 BR, BR 不但可以直接清除氧自由基,还能通过抑制补体活化而减轻炎性细胞的聚集,达到抗氧化效果^[8]。且产物 Fe^{2+} 通过诱导铁蛋白生成,减少细胞内游离铁的蓄积而发挥细胞保护作用,以此对抗 ROS 导致的细胞氧

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31471148);陆军军医大学大学生创新创业基金资助项目(面上项目)(201790031007)

作者单位:400038 重庆,陆军军医大学基础医学院三大队(温晴),组织胚胎学教研室(温晴、周敬杰、李红丽)

通讯作者:李红丽,电子信箱:lihlimm@163.com

化损伤^[9]。

2. 抗炎作用:张清队等^[10]在低氧无血清条件下诱导脂肪干细胞中 HO-1 高表达时发现,HO-1 产物一氧化碳(CO)通过抑制促炎基因、下调促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 的表达,同时促进抗炎细胞因子 IL-10 的分泌,直接抑制炎症反应,IL-10 又诱导单核-吞噬细胞中 HO-1 的表达,形成了抗炎反应机制的正反馈循环,对脂肪干细胞起到了很好的保护作用。同时,CO 还能抑制血小板的激活和聚集,从而间接抑制血小板诱导所产生的致炎反应。另有研究发现,产物 BV 也可通过抑制内皮细胞选择素的表达或通过抑制经典途径 C1 的激活从而保护组织免遭补体活化介导的炎症损伤,发挥间接抗炎作用^[11]。

3. 抗凋亡作用:Tayem 等^[12]在研究水溶性异硫氰酸酯对肾功能不全的影响中发现,其通过上调 HO-1 表达,使抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xl 含量增加并且促凋亡因子 caspase-3 和 caspase-9 含量降低,从而减少肾损伤。其中,Bcl-2 等抗凋亡因子表达增加的机制之一是 HO-1 分解产物 BR 通过胞外信号调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2)通路发挥作用^[13]。Park 等^[14]发现去氢- α -姜黄烯能够上调 HO-1,通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路,减少对 Bcl-2 的抑制作用,从而减少小鼠体细胞凋亡,提高脓毒症小鼠的生存率。另有研究显示,HO-1 产物 CO 的抗凋亡作用通过活化核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)介导的信号通路以促进抗凋亡蛋白的表达,抑制细胞凋亡蛋白酶的活性,进而阻止 Fas 介导的细胞凋亡^[15]。

4. 抗衰老作用:氧化应激是机体衰老的主要机制之一。机体的衰老伴随着心血管系统、神经系统等退行性疾病的发生。Johnson 等于 1996 年首次提出 HO 系统具有降压作用。在自发性高血压大鼠血管中发现 HO-1 表达增加,而后又发现基因敲除 HO-1 大鼠的血压更高,提示 HO-1 在降压中发挥一定作用^[16]。Hassan 等^[17]进一步研究发现,HO-1 通过 HO-脂联素-心钠肽系统减缓肾脏纤维化进程,降低肾性高血压。Liu 等^[18]在兔动脉粥样硬化模型中发现,诱导 HO-1 表达可使家兔心血管内膜厚度以及内膜/中膜厚度比显著降低,且诱导 HO-1 表达还可改善氧化型低密度脂蛋白引起的泡沫细胞聚集状况,提示 HO-1 具有抗动脉粥样硬化的能力^[19]。在神经系统方面,Meng 等^[20]通过动物实验发现,上调 HO-1 可减少大鼠海马细胞死亡,减少 β 样淀粉沉

积造成的神经毒性,减少阿尔茨海默病的发生。越来越多的实验证实了 HO-1 可预防或改善退行性疾病的发生、发展,达到抗衰老的作用。

5. 促进血管再生:Cheng 等^[21]提出,HO-1 抑制剂锌原卟啉通过下调 HO-1 表达,从而减少 CO 生成,间接减少血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的含量,且诱导 HO-1 或增加 CO 诱导分子能使 VEGF 的合成量增加约 30%。不仅如此,上调 HO-1 还可以减少内皮细胞凋亡,达到调节血管张力、舒张血管、减轻血管壁的炎症反应、参与血管生成等作用^[14]。在肿瘤研究中也发现,HO-1 参与肿瘤血管生成、增殖、转移等多种生物学过程,与肿瘤的发生、发展密切相关^[22]。虽然在各项实验中发现了 HO-1 与血管生成密切相关,但其具体机制尚不十分清楚。关于 HO-1 的分解产物是否具有促进血管生成作用的相关研究少,其中 Ram 等^[23]发现胆红素能促进糖尿病小鼠创面处的胶原沉积和血管新生,有助于创面愈合,但这一作用仍需进一步得到验证。

三、HO-1 抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗衰老作用的相关信号通路

1. 抗氧化相关信号通路:Nrf2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2)是细胞抗氧化应激体系中的关键转录因子,Nrf2/ARE 信号通路是细胞抗氧化应激的关键通路。正常的生理状态下,Nrf2 与其抑制蛋白 Keap-1 结合存在于细胞质中,并通过泛素化而处于惰性状态,Nrf2 阻遏剂 Bach1 在细胞核内与 HO-1 启动子抗氧化剂反应元件(antioxidant response elements,AREs)紧密结合从而抑制 HO-1 的表达^[19]。Li 等^[24]在研究多氯联苯醌激活 Nrf2/ARE 通路且诱导 HO-1 表达的机制中表明,在氧化应激条件下,ROS 通过蛋白激酶 C(PKC)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、磷脂酰肌醇激酶(PI₃K)等信号调节通路,使 Nrf2 磷酸化,减少泛素化,并与 Keap-1 解离,激活 Nrf2,使更多活化的 Nrf2 转位到细胞核与 ARE 结合而启动 HO-1 基因的转录,使 HO-1 表达上调。

2. 抗炎相关信号通路:NF- κ B 是 DNA 结合蛋白,在各种细胞外刺激介导的细胞信息的转导调控中起中心作用^[25]。且 HO-1 的启动子区含有 NF- κ B 结合位点。生理条件下,NF- κ B 存在于细胞质中并与其抑制剂 I- κ B 结合。当机体受到损伤性刺激时,I- κ B 发生磷酸化并和 NF- κ B 分离,而 NF- κ B 由

于解除抑制而转位入核,与 HO-1 启动子上的 κB 位点结合,启动 HO-1 的转录。另有研究表明,氧化还原条件下,HO-1 可通过活化蛋白 1 (activator protein 1, AP-1) 启动 HO-1 转录。AP-1 是 Fos 和 Jun 蛋白形成的异二聚体或同种二聚体复合物,是对氧化还原敏感的转录激活蛋白。Lu 等^[19] 在脂多糖引起的炎症中发现,通过 AP-1 上游的信号分子如 ERK 和 JNK 分别使 c-Fos 和 c-Jun 磷酸化,磷酸化的 c-Fos 和 c-Jun 入核形成二聚体,与 AP-1 结合位点相结合从而启动 HO-1 基因的表达。不仅如此,HO-1 还能通过产物 CO 激活转录因子 NF- κB ,减少细胞间黏附分子-1 (ICAM1) 和诱生型一氧化氮合酶 (iNOS) 的表达,抑制炎症细胞浸润,从而发挥抗炎作用。

3. 抗凋亡相关信号通路:Yeh 等^[14] 在探索谷氨酸对脑血管内皮细胞的影响时发现,NF- κB 能促进内皮细胞的抗凋亡蛋白如 Bcl-x 的表达,抑制细胞凋亡蛋白酶的活性。不仅如此,NF- κB 还能够阻断高亲和力 T 细胞受体 (TCR) 以及凋亡受体发出的凋亡信号,从而保护发育中的 NKT 细胞。而 HO-1 可上调 NF- κB 表达,因此,HO-1 可通过 NF- κB 途径抑制细胞凋亡^[25]。HO-1 代谢产物 CO 是机体内重要的第二信使,通过多个信号通路发挥抗凋亡作用。Loboda 等^[22] 在研究肿瘤的发生发展过程中发现,血管内皮细胞中的 CO 通过 p38MAPK 信号转导通路介导抗凋亡作用。p38MAPK 活化后入核,激活突触相关蛋白 1 (SAP-1) 等转录因子,减少 TNF- α 、IL-1 β 的生成,从而减少细胞凋亡。Nemecek 等进一步研究表明,HO-1 产物 CO 可通过阻断 JNK 磷酸化和降低 caspase-3、6、9 的活性,从而调节猪卵母细胞的体外衰老过程及其凋亡。另有 Zhang 等在研究呼吸综合征病毒复制的抑制机制时也发现,CO 通过自分泌和旁分泌方式扩散,激活环 GMP/蛋白激酶 G (cGMP/PKG) 信号转导途径,PKG 进一步诱导 HO-1 表达,从而抑制细胞凋亡。

4. 抗衰老相关信号通路:关于 HO-1 缓解高血压、动脉粥样硬化、阿尔茨海默病等退行性疾病的具体作用机制还有待研究。有研究认为,抗衰老作用是抗氧化应激、抗炎、抗凋亡作用产生的结果。有研究显示,HO-1 分解产物 CO 通过活化可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC),调节血管作用分子的产生,抑制内皮素-1 和血管收缩成分的产生,刺激细胞内储存的 NO 释放,并且通过降低中枢交感神经的兴奋性起到

扩张血管效应,发挥降血压作用。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 激动剂是一种潜在的保护因子^[18]。另外有关于脂多糖 (LPS) 诱导的脑炎研究表明,早期活化的小胶质细胞中 PPAR- γ 明显增加,PPAR- γ 上调 HO-1 的表达,从而有效的抑制炎性反应对神经元的损伤作用,减缓神经元老化。

综上所述,研究显示 HO-1 具有抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗衰老等细胞保护作用。然而,在缺血、缺氧、炎症、紫外线等创伤应激条件下,机体自然诱导的 HO-1 表达上调却不足以完全抵抗损伤刺激所带来的细胞损伤和微环境的破坏。近年来,我国多用姜黄素、丹参等中药诱导体内 HO-1 表达,但在发挥功效的同时也带来了其他不良反应。为此,探寻创伤条件下能够快速有效地提升 HO-1 的表达且对机体不良影响小的治疗方式,就有望获得更强的细胞保护作用,从而有效控制创伤应激对机体的损伤。近年来 Bolisetty 等通过基因技术上调肾 HO-1 的表达,有效地减少急性肾损伤带来的伤害。然而,目前关于有效快速上调 HO-1 表达的相关基因技术尚不成熟,有待完善,且其对机体带来的不良影响仍有待于进一步观察。其他快速有效上调 HO-1 的方式仍需进一步研究和探索。

参考文献

- 1 Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1968,61(2):748-755
- 2 Yu J, Shi J, Wang D, *et al.* Heme oxygenase-1/carbon monoxide-regulated mitochondrial dynamic equilibrium contributes to the attenuation of endotoxin-induced acute lung injury in rats and in lipopolysaccharide-activated macrophages[J]. *Anesthesiology*, 2016,125(6):1190-1201
- 3 Brogliato AR, Moor AN, Kesl SL, *et al.* Critical role of 5-lipoxygenase and heme oxygenase-1 in wound healing[J]. *J Invest Dermatol*, 2014,134(5):1436-1445
- 4 Davydov R, Fleischhacker AS, Bagai I, *et al.* Comparison of the mechanisms of heme hydroxylation by heme oxygenases-1 and -2: kinetic and cryoreduction studies[J]. *Biochemistry*, 2016,55(1):62-68
- 5 Jais A, Einwallner E, Sharif O, *et al.* Heme oxygenase-1 drives metaflammation and insulin resistance in mouse and man[J]. *Cell*, 2014,158(1):25-40
- 6 Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989,86(1):99-103
- 7 Lin CY, Hsiao WC, Huang CJ, *et al.* Heme oxygenase-1 induction by the ROS-JNK pathway plays a role in aluminum-induced anemia

- [J]. J Inorg Biochem, 2013,128:221-228
- 8 Jansen T, Daiber A. Direct antioxidant properties of bilirubin and biliverdin. Is there a role for biliverdin reductase? [J]. Front Pharmacol, 2012,3:30
- 9 Parfenova H, Leffler CW, Basuroy S, *et al.* Antioxidant roles of heme oxygenase, carbon monoxide, and bilirubin in cerebral circulation during seizures [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2012, 32 (6): 1024-1034
- 10 张清队,刁军,武维恒,等. 血红素加氧酶-1 对脂肪干细胞的保护性研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2016,1:1567-1569
- 11 Wegiel B, Otterbein LE. Go green: the anti-inflammatory effects of biliverdin reductase[J]. Front Pharmacol, 2012,3:47
- 12 Tayem Y, Green CJ, Motterlini R, *et al.* Isothiocyanate-cysteine conjugates protect renal tissue against cisplatin-induced apoptosis via induction of heme oxygenase-1 [J]. Pharmacol Res, 2014,81:1-9
- 13 Song S, Wang S, Ma J, *et al.* Biliverdin reductase/bilirubin mediates the anti-apoptotic effect of hypoxia in pulmonary arterial smooth muscle cells through ERK1/2 pathway[J]. Exp Cell Res, 2013,319 (13):1973-1987
- 14 Park EJ, Park SW, Kim HJ, *et al.* Dehydrocostuslactone inhibits LPS-induced inflammation by p38MAPK-dependent induction of hemeoxygenase-1 in vitro and improves survival of mice in CLP-induced sepsis in vivo[J]. Int Immunopharmacol, 2014,22(2):332-340
- 15 Yeh PY, Li CY, Hsieh CW, *et al.* CO-releasing molecules and increased heme oxygenase-1 induce protein S-glutathionylation to modulate NF-kappaB activity in endothelial cells [J]. Free Radic Biol Med, 2014,70:1-13
- 16 Libby P, Lichtman AH, Hansson GK. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans [J]. Immunity, 2013,38(6):1092-1104
- 17 Hassan N, El-Bassossy HM, Zakaria MN. Heme oxygenase-1 induction protects against hypertension associated with diabetes: effect on exaggerated vascular contractility [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2013,386(3):217-226
- 18 Liu D, He Z, Wu L, *et al.* Effects of induction/inhibition of endogenous heme oxygenase-1 on lipid metabolism, endothelial function, and atherosclerosis in rabbits on a high fat diet [J]. J Pharmacol Sci, 2012,118(1):14-24
- 19 Lu CY, Yang YC, Li CC, *et al.* Andrographolide inhibits TNFalpha-induced ICAM-1 expression via suppression of NADPH oxidase activation and induction of HO-1 and GCLM expression through the PI3K/Akt/Nrf2 and PI3K/Akt/AP-1 pathways in human endothelial cells [J]. Biochem Pharmacol, 2014,91(1):40-50
- 20 Meng X, Wang M, Sun G, *et al.* Attenuation of Abeta25-35-induced parallel autophagic and apoptotic cell death by gypenoside X VII through the estrogen receptor-dependent activation of Nrf2/ARE pathways [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014,279(1):63-75
- 21 Cheng CC, Guan SS, Yang HJ, *et al.* Blocking heme oxygenase-1 by zinc protoporphyrin reduces tumor hypoxia-mediated VEGF release and inhibits tumor angiogenesis as a potential therapeutic agent against colorectal cancer [J]. J Biomed Sci, 2016,23:18
- 22 Loboda A, Jozkowicz A, Dulak J. HO-1/CO system in tumor growth, angiogenesis and metabolism-Targeting HO-1 as an anti-tumor therapy [J]. Vascu Pharmacol, 2015,74:11-22
- 23 Ram M, Singh V, Kumawat S, *et al.* Bilirubin modulated cytokines, growth factors and angiogenesis to improve cutaneous wound healing process in diabetic rats [J]. Int Immunopharmacol, 2016,30:137-149
- 24 Li L, Dong H, Song E, *et al.* Nrf2/ARE pathway activation, HO-1 and NQO1 induction by polychlorinated biphenyl quinone is associated with reactive oxygen species and PI3K/AKT signaling [J]. Chem Biol Interact, 2014,209:56-67
- 25 Chang TP, Vancurova I. NFkappaB function and regulation in cutaneous T-cell lymphoma [J]. Am J Cancer Res, 2013,3(5):433-445
- (收稿日期:2017-12-20)
- (修回日期:2018-02-06)

RGS 与心血管系统的研究进展

胡哲夫 唐其柱

摘要 G 蛋白信号调节因子(regulators of G protein signaling,RGS)是一种具有多功能的蛋白质分子大家族,它们的共性是分子结构中拥有一个相同的核心为 130 个氨基酸残基的保守性 RGS 结构域,可以直接与活化状态下的 G α 亚基结合使 GTPase 降解失活,从而负性调控 G 蛋白偶联受体(G protein coupled receptor,GPCR)信号相关信号通路反应。经过多年的研究,RGS 分子可表达于 20 余种哺乳动物体内。在人体中,RGS 被证实与多种系统疾病的发生、发展密切相关,包括肺、心血管、骨骼、肿瘤的生

基金项目:国家教育部博士点基金资助项目(20130141130010)

作者单位:430060 武汉大学人民医院

通讯作者:唐其柱,教授,博士生导师,电子信箱:qztang@whu.edu.cn