

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.35.047

Notch 信号通路与溃疡性结肠炎的相关研究进展*

闫曙光^{1,2}, 惠 毅¹, 李京涛¹综述, 周永学^{1,2} 审核

(1. 陕西中医学院方剂学教研室, 陕西咸阳 712046; 2. 陕西省胃肠病证方药省级重点实验室, 陕西咸阳 712046)

〔关键词〕 Notch 信号通路; 结肠炎, 溃疡性; 研究进展

〔中图分类号〕 R23 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1671-8348(2015)35-5033-03

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是以结肠上皮黏膜的持续性损伤为主要病理改变的临床难治性疾病^[1-2]。大量证据表明肠道上皮细胞的增殖和分化在结肠上皮黏膜的维护和修复方面发挥着重要的作用,当肠道上皮细胞系统的增殖和分化失常时会诱发多种肠道疾病(如溃疡性结肠炎、克罗恩病,甚至结肠癌等)^[3-5]。肠道上皮细胞的增殖和分化主要受 Notch、Wnt 和 BMP 等细胞内信号通路的调节^[6-8],其中 Notch 信号通路是黏膜层再生过程中的决定性因素,是调节肠道上皮细胞增殖和分化以及参与肠道上皮细胞的维护,保持肠道上皮细胞抗菌活性的关键通路^[3,9]。此外,Notch 信号通路在淋巴前体细胞向 T 淋巴细胞的分化以及 T 淋巴细胞向 Th1 或 Th2 效应淋巴细胞的分化过程中起重要作用^[10-11],而 Th1 和 Th2 效应淋巴细胞在溃疡性结肠炎发病中起重要作用,其分化控制调节的炎性细胞因子白细胞介素(IL)-2、肿瘤坏死因子- γ (IFN- γ)、IL-4、IL-10 表达失衡可能是溃疡性结肠炎发病的主要机制之一。

1 Notch 信号通路

Notch 信号通路由 Notch 受体、Notch 配体和 DNA 结合蛋白组成。在哺乳动物体内,有 4 种 Notch 受体(Notch1~4),广泛分布于人体的淋巴细胞、血管内皮细胞、肠上皮细胞中,其中 Notch-1 主要分布在肠道中。Notch 具有多种配体,在哺乳动物中有 5 种,命名为 Jagged1-2、Delta-like 1、Delta-like3 和 Delta-like4^[12]。Notch 配体与受体结合后,在肿瘤坏死因子 α 转化酶(tumor necrosis factor α converting enzyme, TACE)作用下,Notch 受体于细胞膜外被酶切,释放出和 Notch 配体连接的胞外部分,随后在 γ -分泌酶的作用下,胞内段被酶切,形成可溶性的 notch 胞内区域(notch intracellular domain, NICD)转移至核内,与转录抑制因子 RBP-J(recombination signal binding protein for Ig k J region, RBP-J)结合,调节靶基因表达,最终影响细胞的分化、增殖和凋亡^[13]。Notch 信号的靶基因多为碱式螺旋-环-螺旋家族转录因子,其中 Hes1 和 Hath1 是调节人类肠道上皮细胞分化的主要靶基因^[14],Hes1 基因的表达式能促使肠上皮细胞向吸收细胞系分化。而 Hath1 是肠上皮细胞向分泌细胞系分化的靶基因。Notch 信号通路活化后通过促使 Hes1 在肠道上皮的细胞的表达来抑制 Hath1 的表达,使肠上皮细胞朝着吸收细胞系分化,对肠上细胞的命运起决定作用。当敲除小鼠的 Hes1 基因后,肠上皮细胞中可见到以肠分泌细胞、潘氏细胞和杯状细胞(分泌细胞)增多,肠

细胞(吸收细胞)减少^[15]。当敲除 Math1 基因(与人类 Hath1 基因等同)后肠上皮细胞表现则与之相反^[7]。嗅蛋白 4(Olfactomedin-4, OLFM4)是促进肠上皮细胞增殖的靶基因,Obata 等^[5]研究发现 Notch 信号通路是通过促进干细胞内 OLFM4 的表达来促进肠道干细胞增殖的。

2 Notch 信号通路的活化对结肠上皮细胞增殖的影响

Notch 信号通路的活化在肠道上皮细胞中主要有两方面的作用:一是促进肠道上皮细胞的增殖;二是决定肠道上皮细胞中分泌和吸收细胞的命运,在杯状细胞的分化过程中至关重要^[16-17]。在生理状态下,肠道上皮细胞通过不断地增殖和凋亡维持着肠道上皮的稳定状态,当肠道上皮受损后,更需要大量增殖的上皮细胞对受损部位进行修复和重建,因此,从促进上皮细胞增殖的角度来分析 Notch 信号通路的活化对 UC 的结肠黏膜损伤的修复是有益的。Obata 等^[5]给正常小鼠使用 Notch 信号通路抑制剂后,形态学观察发现肠道上皮隐窝底部柱状干细胞数量明显减少,同时凋亡细胞的死亡明显增多,20 周左右小鼠会自发地形成溃疡性结肠炎。Okamoto 等^[3]对已经形成溃疡性结肠炎的小鼠应用 Notch 信号通路抑制剂后,可见严重的结肠上皮层的丢失和炎性细胞的浸润,也几乎观察不到上皮细胞再生的迹象。此外,Notch 信号通路还可以促进肠道祖细胞的增殖,促使潘氏细胞分泌 PLA2G2A 抗菌素从而调节肠道上皮细胞免疫功能,保持肠道内环境的平衡,这些作用均能促进肠道上皮细胞再生,对 UC 起到治疗作用^[3,7,16]。

3 Notch 信号通路的活化对结肠上皮细胞分化的影响

增殖的上皮细胞需要通过分化系统的调节,转换成不同类型的肠上皮细胞,共同构成肠道的上皮结构。Notch 信号通路主要作用于肠道祖细胞有丝分裂后期,通过促进肠上皮细胞向吸收细胞转换,从而减少分泌细胞特别是杯状细胞的数量^[18]。杯状细胞是构成结肠上皮的主要细胞,约占结肠上皮细胞总数的 50%,它能产生和分泌大多数的粘蛋白(MUC2)、大量生物活性分子如上皮膜结合蛋白、三叶因子多肽、抵抗素样因子 β 、Fc- γ 结合蛋白等,这些物质构成了肠道的黏液层,在肠道和上皮之间起着重要的防御作用,使上皮细胞免受肠道内微生物的侵害^[19]。在活动性 UC 患者的损伤部位,可以见到大量的杯状细胞丢失及其分泌的粘蛋白的减少,造成黏液层的丢失,扰乱了黏膜屏障的正常防御功能,导致微生物侵入诱发炎症反应^[20-21]。在正常人的结肠黏膜中,几乎所有的肠道上皮细胞都表达 Hath1,相比之下 Hes1 主要在绒毛的下半部以下位置

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81403320);陕西省教育厅基金资助项目(2013JK0824);陕西省科技厅基金资助项目(2013JQ4006)。 作者简介:闫曙光(1981—),讲师,博士,主要从事中医药治疗消化系统疾病的临床及实验研究。

的上皮细胞中表达。而 UC 患者的结肠黏膜中,表达 Hath1 的细胞消失了,而表达 Hes1 的阳性细胞则延伸到了绒毛的顶端,杯状细胞明显减少,这表明 Notch 信号通路的活化增强,过度激活的 Notch 信号通路促进大量的结肠上皮细胞向吸收细胞系分化,影响了上皮细胞的分化平衡,导致大量杯状细胞消失^[22]。在正常小鼠的结肠组织中,Hes1 主要在隐窝最底部的肠上皮细胞中表达,而 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠的炎性黏膜中杯状细胞和其分泌的粘蛋白显著减少,表达 Hes1 的结肠上皮细胞数量明显增加,分布部位也遍及整个隐窝,这表明 Notch 信号通路的过度活化导致了杯状细胞和其分泌的粘蛋白减少^[3,22]。因此,从调节上皮细胞分化的角度来分析,Notch 信号通路的适度活化保持着吸收细胞系和分泌细胞系之间的平衡,而过度活化导致了分泌细胞系的减少(特别是杯状细胞的减少),对 UC 的治疗又是不利的。

4 Notch 信号通路通过影响 T 淋巴细胞的活化和分化参与肠道的炎症反应

现代研究表明,肠道免疫系统调节异常在溃疡性结肠炎的发生、发展过程中起着重要的作用。T 淋巴细胞在肠道免疫系统中发挥着重要的作用,在 T 淋巴细胞的增殖和分化过程中会释放大量的细胞因子,这些细胞因子根据功能不同可分为促炎因子和致炎因子,而促炎因子和抗炎因子之间的平衡失调最终引起免疫反应被认为是导致 UC 发病的重要原因。如促炎细胞因子 IL-1、IL-6、IL-8、TNF、IFN- γ 等是介导 UC 发病的细胞因子,而一些具有抗炎作用的细胞因子,如 IL-4、IL-10、TGF- β 等则在维持肠道正常的免疫功能中起重要作用。而 Notch 信号通路则可以影响 T 淋巴细胞的活性以及分化,Notch 信号通路在 T 淋巴细胞的活性调控中发挥重要作用,T 细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)是影响 T 淋巴细胞活性的主要物质,Notch 信号通路激活后可阻断促凋亡核受体蛋白 Nur77 的活性,从而抑制 TCR 激活后引起的 T 淋巴细胞的凋亡,而激活周围 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞 TCR 受体的同时阻断 Notch 受体的激活则会抑制 T 淋巴细胞的增殖以及 IFN- γ 的分泌。在 CD4⁺ T 淋巴细胞中,CD4⁺ T TCR 受体激活后促进 CD4⁺ T 淋巴细胞分泌 IL-10,但阻断 Notch 受体激活后 IL-10 分泌被抑制^[23]。此外,Notch 受体还可调控激活的 T 淋巴细胞向 Th1、Th2 方向分化。Notch3 受体可促进激活的 CD4⁺ T 淋巴细胞向 Th1 方向进行分化,而 Notch 受体在 CD4⁺ T 淋巴细胞的 Th2 方向分化中同样起着调控作用^[24-25],Th1 细胞能合成 IL-2、IFN- γ 、LT、IL-3、TNF- α 等细胞因子,Th2 能合成 TNF- α 、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子,而这些细胞因子之间的网状平衡被打破,则是导致溃疡性结肠炎发生和发展的主要原因。

综上所述,在生理状态下,Notch 信号通路的活化在促进结肠上皮细胞增殖和调节分化方面保持着平衡协调的关系,Notch 信号通路的适度活化既能有效促进结肠上皮细胞的更新,又保持着吸收细胞和分泌细胞之间正常的分化平衡,同时 Notch 信号通路又通过调节 T 细胞的增殖和分化控制着细胞因子间的网状平衡,调节着肠道免疫系统。而在 UC 的发病过程中,这一平衡被打破,表现为 Notch 信号通路在结肠黏膜中的活化程度和活化区域的改变以及肠道免疫平衡的破坏,因此,调节 Notch 信号通路在促进增殖和调节分化方面保持着平衡是治疗溃疡性结肠炎的关键。目前,对 Notch 信号通路和溃

疡性结肠炎的相关研究主要以基础研究为主,还未发现能有效干预 Notch 信号通路的手段和药物,但越来越多的研究结果表明调节 Notch 信号通路可能为治疗 UC 提供新的思路和药物作用靶点。

参考文献

- [1] Reid G, Carey FA. Pathology of idiopathic inflammatory bowel disease[J]. Surgery (Oxford), 2011, 29(8): 362-365.
- [2] Salim SY, Söderholm JD. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases[J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17(1): 362-381.
- [3] Okamoto R, Tsuchiya K, Nemoto Y, et al. Requirement of notch activation during regeneration of the intestinal epithelia[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 296(1): G23-G35.
- [4] Sturm A, Dignass AU. Epithelial restitution and wound healing in inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(3): 348-353.
- [5] Obata Y, Takahashi D, Ebisawa M, et al. Epithelial cell-intrinsic Notch signaling plays an essential role in the maintenance of gut immune homeostasis[J]. J Immunol, 2012, 188(5): 2427-2436.
- [6] Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease[J]. Cell, 2006, 127(3): 469-480.
- [7] Fre S, Huyghe M, Mourikis P, et al. Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine[J]. Nature, 2005, 435(744): 964-968.
- [8] Crosnier C, Stamatakis D, Lewis J. Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control[J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(5): 349-359.
- [9] Bjerknes M, Cheng H. Gastrointestinal stem cells. II. Intestinal stem cells[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2005, 289(3): G381-G387.
- [10] Tan JB, Visan I, Yuan JS, et al. Requirement for notch1 signals at sequential early stages of intrathymic T cell development[J]. Nat Immunol, 2005, 6(7): 671-679.
- [11] Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, et al. A novel transcription factor, t-bet, directs Th1 lineage commitment[J]. Cell, 2000, 100(6): 655-669.
- [12] D'souza B, Miyamoto A, Weinmaster G. The many facets of notch ligands[J]. Oncogene, 2008, 27(38): 5148-5167.
- [13] Blanpain C, Horsley V, Fuchs E. Epithelial stem cells: turning over new leaves[J]. Cell, 2007, 128(3): 445-458.
- [14] Schröder N, Gossler A. Expression of notch pathway components in fetal and adult mouse small intestine[J]. Gene Expr Patterns, 2002, 2(3/4): 247-250.
- [15] Suzuki K, Fukui H, Kayahara T, et al. Hes1-deficient mice show precocious differentiation of paneth cells in the small intestine[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 328(1): 348-352.
- [16] Vooijs M, Ong CT, Hadland B, et al. Mapping the conse-

quence of Notch1 proteolysis in vivo with NIP-CRE[J]. Development,2007,134(3):535-544.

[17] Stanger BZ,Datar R,Murtaugh LC,et al. Direct regulation of intestinal fate by Notch[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(35):12443-12448.

[18] Zecchini V,Domaschenz R,Winton D,et al. Notch signaling regulates the differentiation of post-mitotic intestinal epithelial cells[J]. Genes Dev,2005,19(14):1686-1691.

[19] Kim YS,Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease;recent insights and progress[J]. Curr Gastroenterol Rep,2010,12(5):319-330.

[20] Ohning GV. Intestinal mucins; the first line of defense [J]. J Clin Gastroenterol,2013,47(2):104-105.

[21] Gersemann M,Stange EF,Wehkamp J. From intestinal stem cells to inflammatory bowel diseases[J]. World J Gastroenterol,2011,17(27):3198-3203.

[22] Zheng X,Tsuchiya K,Okamoto R,et al. Suppression of

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.35.048

hath1 gene expression directly regulated by hes1 via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis,2011,17(11):2251-2260.

[23] Benson RA,Adamson K,Corsin-Jimenez M,et al. Notch1 co-localizes with CD4 on activated T cells and Notch signaling is required for IL-10 production[J]. Eur J Immunol,2005,35(3):859-869.

[24] Amsen D,Blander JM,Lee GR,et al. Instruction of distinct CD4 T helper cell fates by different notch ligands on antigen-presenting cells[J]. Cell,2004,117(4):515-526.

[25] Tu L,Fang TC,Artis D,et al. Notch signaling is an important regulator of type 2 immunity[J]. J Exp Med,2005,202(8):1037-1042.

(收稿日期:2015-05-12 修回日期:2015-07-10)

小儿全身麻醉苏醒期谵妄的研究进展*

刘书婷 综述,王寿勇[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院麻醉科/儿童发育疾病研究教育部重点实验室/儿科学重庆市重点实验室/
重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地 400014)

[关键词] 谵妄;儿童;全身麻醉
[中图分类号] R614.2 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2015)35-5035-03

小儿全身麻醉苏醒期谵妄(emergency delirium,ED)主要表现为对周围环境的认知和注意力发生紊乱,出现定向障碍及知觉改变,包括对刺激敏感和运动亢进的行为。其发生率高,多见于2~5岁的学龄前儿童,且与麻醉药物、手术部位等多种因素有关^[1]。小儿ED不但影响苏醒质量,还可能伴随潜在的身体伤害效应,是小儿围麻醉期值得重点关注的临床问题。本文就小儿ED的诱发因素、诊断及防治等方面的进展综述如下。

1 小儿ED的诱发因素

一般认为,小儿ED的发生是多因素作用的共同结果,其中,主要的诱发因素包括吸入麻醉剂、疼痛及术前焦虑。

1.1 吸入麻醉剂 吸入麻醉剂的使用被认为是引起小儿ED的重要因素。在吸入麻醉时,小儿ED发生率甚至可高达40%^[2]。Chandler等^[2]发现,七氟烷麻醉后患儿ED的发生率明显高于丙泊酚-瑞芬太尼麻醉组的患儿,其中,七氟烷组为38.3%,而丙泊酚-瑞芬太尼组仅为14.9%。Pedersen等^[3]研究发现,在行磁共振成像(MRI)检查时,使用七氟烷麻醉的患儿ED发生率较丙泊酚麻醉者更高。除七氟烷外,当前临床常用的异氟烷和地氟烷也被认为是引起小儿ED的重要因素。研究显示,采用七氟烷、异氟烷和地氟烷麻醉的患儿,术后ED发生率没有显著差异^[4-6]。有关吸入麻醉剂引发小儿ED的机

制,目前尚不完全清楚。有研究认为,这可能与吸入麻醉剂改变了大脑功能连接性有关。Martin等^[7]发现,采用七氟烷麻醉后,出现ED的小儿其额叶功能连接性增强。另有研究表明,与正常苏醒小儿相比,出现ED的小儿其大脑顶叶皮质乳酸、葡萄糖含量增加,磷酸肌酸含量减少,这种脑代谢改变同样预示着大脑功能连接性的改变^[8]。此外,有观点认为,七氟烷麻醉后的苏醒过快可能是引起ED的重要原因之一。在快速苏醒时,中枢各部分恢复时间不一致,在大脑皮质还处于抑制状态时,皮质下中枢首先恢复功能,影响小儿对外界刺激的反应及处理能力,从而导致精神及行为分离障碍。ED的行为表现与小儿夜惊时的行为表现非常相似,在一定程度上也可说明其与睡眠过程中的突然苏醒有相关联系。脑电图监测发现,发生ED的小儿在苏醒前脑电图呈短期的非睡眠样波形^[7],这可能是由于小儿苏醒过快,从而缺少足够时间进入正常的睡眠状态所致。

1.2 疼痛 疼痛一直以来都被认为是导致ED的重要原因。较高的疼痛评分往往伴随较高的ED评分。同时,阿片类镇痛药物能有效减少ED的发生率,也可间接说明疼痛对其的影响^[9]。但是,对于疼痛是否成为小儿ED的重要诱因并未取得一致意见。Locatelli等^[4]观察了247例行下腹部手术的患儿,在全身麻醉的同时,联合实施骶管神经阻滞,以达到充分的苏

* 基金项目:国家临床重点专科建设基金资助项目(国卫办医函[2013]544)。 作者简介:刘书婷(1989—),硕士,主要从事全身麻醉及相关并发症的研究。 [△] 通讯作者,Tel:15683827075;E-mail:wangshyong@126.com。