

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.35.041

## P38 MAPK 信号通路在急性肺损伤中作用的研究进展\*

林 飞,王甜甜,何 义综述,潘灵辉 审核

(广西医科大学附属肿瘤医院麻醉科,南宁 530021)

[关键词] p38 丝裂原活化蛋白激酶类;呼吸窘迫综合征,成人;炎症;细胞凋亡

[中图分类号] R563

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)35-5023-03

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是住院患者急性呼吸道症状的主要原因,据统计,有超过 10% 的 ALI 患者需进入重症监护病房治疗<sup>[1]</sup>,在美国每年有接近 20 000 例发生 ALI<sup>[2]</sup>。而我国 ALI 的发病率为 38/10 万,且病死率高达 32%~55%,近年来还有逐步增高的趋势<sup>[3]</sup>。ALI 的病理生理机制是肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞的损伤,使肺泡屏障通透性增加,造成弥漫性的肺间质和肺泡水肿及炎性反应,表现为弥漫性的渗出和严重的低氧血症<sup>[4]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)细胞信号转导通路可将胞外刺激信号传导至胞内乃至其核内来调控基本的细胞生理过程,在细胞的生长、增殖、凋亡及分化等生理过程中扮演重要角色。其中, P38 MAPK 是 MAPK 家族中的重要成员之一,在 ALI 发生、发展中起重要作用<sup>[5]</sup>,已成为研究 ALI 发病机制的热点之一。因此,本文对 P38 MAPK 在 ALI 发病过程中的作用机制综述如下。

## 1 P38 MAPK 信号通路概述

MAPK 是存在于哺乳动物细胞内的一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。MAPK 信号转导通路将细胞外刺激信号转至胞内乃至其细胞核内,并在引起细胞生物学反应(如细胞增殖、分化及凋亡等)的过程中起着至关重要的作用。在哺乳动物细胞内 MAPK 信号通路主要有: P38 MAPK 信号通路、细胞外信号调节酶(extracellular signal-regulate kinase, ERK)信号通路、c-jun 氨基末端激酶(c-jun N-terminal kinase, JNK)信号通路。其中, P38 MAPK 是 MAPK 信号通路中的主要成员。

P38 MAPK 有 4 种亚型,由哺乳动物基因组编码表示为  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  和  $\delta$ 。其中 P38 $\alpha$  是炎性反应的主要调节器,它在所有类型的细胞和组织中广泛表达,但是在脑、肝、胰腺的表达水平比较低。P38 $\beta$  在脑、胸腺和脾中高表达,但在骨骼肌中不表达。P38 $\gamma$  在肌肉中表达非常丰富,在其他组织中的表达比较少。P38 $\delta$  在胰腺、肠、肾上腺、肾脏、心脏中表达水平比较高<sup>[6]</sup>。P38 MAPK 信号通路是非常保守的三级磷酸化酶促级联反应。大多数情况下细胞外刺激信号与受体特异性结合后通过 MAPK 激酶激酶(mitogen activated protein kinase kinase kinase, MKKK)作用于 MAPK 激酶(mitogen activated protein kinase kinase, MKK),使其磷酸化活化,而活化的 MKK3/MKK6 会作用于 P38 MAPK,使其磷酸化活化。而 P38 MAPK 下游信号是非常多样的,可导致超过 60 种不同的底物蛋白磷酸化<sup>[7]</sup>。

## 2 P38 MAPK 信号通路参与 ALI 的致病机制

### 2.1 调控炎症反应 P38 MAPK 在炎症反应中的作用是在

对小鼠使用抗炎药物 SB203580 后首次发现的,表现为抑制脂多糖诱导单核细胞产生肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF)、脓毒症和内毒素休克,被确定为蛋白激酶 P38 $\alpha/\beta$ <sup>[8]</sup>。有实验表明,阻断 P38 MAPK 信号通路可以减轻急性呼吸窘迫综合征发病过程中失控的炎性反应,进而有效地保护肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞<sup>[9]</sup>。刘明伟等<sup>[10]</sup>的实验表明,阿伐他汀可通过抑制 P38 MAPK 的表达,进一步地抑制 TNF $\alpha$ 、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症介质及核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的活化,使百草枯中毒大鼠肺组织损伤明显减轻。Zheng 等<sup>[11]</sup>的实验研究表明,使用 SB239063 抑制 p38 $\alpha$  和  $\beta$  可抑制白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )的表达,减轻炎性反应从而保护由肠缺血再灌注引起的 ALI。而在 P38 $\gamma/\delta$  双缺失的小鼠中受到脂多糖刺激后,表现为 TNF 显著减少及更加的耐受内毒素引起的损伤<sup>[12]</sup>。这说明 P38 MAPK 的 4 种亚型在 ALI 的炎性反应中均有着复杂的作用机制。

P38 MAPK 信号转导通路还可通过 P38 MAPK-MK2/MK3-TTP 轴来快速上调哺乳动物的炎症<sup>[13]</sup>。P38 MAPK 活化后可使丝裂原活化蛋白激酶激活蛋白 2/3(mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase-2/3, MK2/MK3)磷酸化,而活化的 MK2/MK3 可使锌指蛋白(tristetraprolin, TTP)磷酸化活化,增强 TNF- $\alpha$  的稳定性和刺激细胞因子 mRNA 的翻译。Menon 等<sup>[14]</sup>的研究发现,在炎性反应中还存在着一种新的正反馈循环,即肿瘤进展轨迹 2(tumor progression locus 2, TPL2)激活 MKK3/6,活化的 MKK3/6 可使 P38 MAPK 磷酸化活化,活化的 p38 $\gamma/\delta$  又能使 TPL2 维持稳态水平,从而形成一种正反馈来加快炎性反应。Ittner 等<sup>[15]</sup>的研究认为 P38 $\delta$  可通过抑制 1 型多囊肾病基因(polycystic kidney disease gene 1, PKD1)的活性,控制中性粒细胞在体内的募集和趋化性,进而可能对肺组织损伤的程度起决定性作用。

### 2.2 调控细胞凋亡

细胞凋亡是促进凋亡信号裂解和激活半胱天门冬蛋白酶(cysteine aspartate-specific proteinase, Caspase)的一个高度管制的过程,它是 ALI 发病过程中的一个重要的病理特征。通过抑制 Caspase 的活性来抑制细胞凋亡可防止肺损伤,表明在细胞凋亡诱导的肺损伤中 Caspase 的激活是不可缺少的<sup>[16]</sup>。研究表明,抑制 P38 MAPK 可以抑制 Caspase3/7 的活性来防止体内的细胞凋亡<sup>[17]</sup>。MK2 是 P38 MAPK 的直接下游底物,也是热休克蛋白(heat shock protein 25/27, HSP25/27)磷酸化的直接上游信号。Damarla 等<sup>[18]</sup>的研究表明,小鼠受到脂多糖刺激后可激活 p38-MK2-HSP25/27

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81560018);广西医疗卫生适宜技术与开发课题资助项目(S201418-05)。 作者简介:林飞(1979—),副主任医师,博士,主要从事围术期肺损伤防治的基础和临床研究。

信号通路和凋亡级联反应,凋亡级联活化后促使 Caspase3 转位到细胞核导致细胞凋亡发生肺损伤;在 MK2<sup>-/-</sup> 的小鼠中, MK2 的缺失可以使 Caspase3 滞留在细胞质中,从而保护其免受脂多糖引起的血管通透性升高和细胞凋亡的影响。

**2.3 调节内皮通透性** ALI 的特点是肺血管通透性增加,伴随着肺泡液体清除能力降低,血管的渗漏、肺水肿、炎症反应均与内皮功能障碍有关<sup>[19]</sup>。微管作为细胞骨架的重要组成部分,保障着内皮功能的正常运作,它具有调节细胞迁移和有丝分裂、维持细胞形态及保证细胞器的运输等多种功能。微管组装/拆卸和空间重排的动态改变是内皮屏障通透性增加的主要原因<sup>[20]</sup>。其中,微管相关蛋白 4(microtubule-associated protein 4, MAP4)可促进微管蛋白装配,对维持微管细胞骨架和细胞间的连接结构是重要的。有研究表明, P38 MAPK 是缺氧导致细胞 MAP4 磷酸化的上游激酶<sup>[21]</sup>。Li 等<sup>[22]</sup>用脂多糖刺激人肺微血管内皮细胞在体外模仿炎症引起的内皮损伤,证实了在由炎症引起的 ALI 中, P38 MAPK 作为上游激酶,促进 MAP4 磷酸化诱导微管蛋白的解离,这种磷酸化后引起微管解聚和血管通透性升高;使用 P38 MAPK 抑制剂 SB203580 后,抑制了 MAP4 磷酸化及其相应微管蛋白的解离,促进了微管的重塑,并降低了血管通透性。然而脂多糖是如何诱导微管分解从而调节内皮屏障功能尚有待进一步研究。

### 3 对 ALI 的药物研究现状

针对控制炎症反应以减轻器官损伤的药物干预研究一直是临床研究的热点。改进的 P38 MAPK 抑制剂已经合成并且进入 I、II 期临床试验中,不幸的是,大多数的临床试验表明 P38 MAPK 抑制剂显示缺乏显著疗效或存在明显的不良反应,包括皮疹、肝毒性等。因此,这些抑制剂至今尚未进入 III 期临床试验<sup>[23]</sup>。P38 MAPK 抑制剂临床试验失败可能与抑制 p38 阻碍了上游相关蛋白激酶的反馈控制有关,这种反馈调节的缺失可导致 P38 MAPK、JNK 和 NK- $\kappa$ B 等因子的激活,进而导致炎症反应的失控<sup>[24]</sup>。而急性呼吸窘迫症的治疗药物,如糖皮质激素、他汀类药物、N-乙酰半胱氨酸、前列腺素 E1、肺泡表面活性物质、 $\beta$ 肾上腺素受体等被发现虽具有改善短期的临床疗效作用,但缺乏降低患者病死率、改善患者远期生活质量的充分证据,还需要临床大规模多中心对照研究的进一步证实<sup>[25]</sup>。

综上所述, P38 MAPK 可通过调控炎症反应、细胞凋亡、内皮通透性等途径参与 ALI 的发生、发展。但是 P38 MAPK 抑制剂的临床试验失败提示需要更加深入研究 P38 MAPK 在肺损伤过程中的复杂机制,以及其与其他信号通路之间存在的多层次、交叉的相互作用,从而为 ALI 的治疗提供新的方向。

### 参考文献

[1] Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. JAMA, 2016, 315(8):788-800.

[2] Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. Incidence and outcomes of acute lung injury[J]. N Engl J Med, 2005, 353(16):1685-1693.

[3] 刘志聪, 王斌, 华锋, 等. 乌司他丁对急性肺损伤患者血清纤溶酶原激活物抑制剂-1、组织型纤溶酶原激活剂的影响[J]. 中国医药导报, 2016, 13(24):148-151.

[4] Lin F, Pan LH, Ruan L, et al. Differential expression of

HIF-1 $\alpha$ , AQP-1, and VEGF under acute hypoxic conditions in the non-ventilated lung of a one-lung ventilation rat model[J]. Life Sci, 2015, 124:50-55.

[5] 秦开秀, 王勇, 简华刚, 等. 内毒素性急性肺损伤小鼠肺组织中 P38 MAPK 的表达[J]. 重庆医学, 2013, 42(12):1362-1364.

[6] Beardmore VA, Hinton HJ, Eftychi C, et al. Generation and characterization of p38beta(MAPK11) gene-targeted mice[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(23):10454-10464.

[7] Trempele N, Dave-Coll N, Nebreda AR, et al. SnapShot: p38 MAPK Substrates[J]. Cell, 2013, 152(4):924.

[8] ReLee JC, Laydon JT, Mc Donnell PC, et al. A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis[J]. Nature, 1994, 372(6508):739-746.

[9] Sim YS, Kim SY, Kim EJ, et al. Impaired expression of MAPK is associated with the downregulation of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-10 in myco-bacterium abscessus lung disease[J]. Tuberc Respir Dis(Seoul), 2012, 72(3):275-283.

[10] 刘明伟, 苏美仙, 李岚, 等. 阿托伐他汀对急性百草枯中毒小鼠肺 p38MAPK 表达及肺损伤的影响[J]. 重庆医学, 2011, 40(25):2534-2536.

[11] Zheng DY, Zhou M, Jin J, et al. Inhibition of P38 MAPK downregulates the expression of IL-1 $\beta$  to protect lung from acute injury in intestinal ischemia reperfusion rats[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016:9348037.

[12] Risco A, Del Fresno C, Mambol A, et al. p38 $\gamma$  and p38 $\delta$  kinases regulate the Toll-like receptor 4(TLR4)-induced cytokine production by controlling ERK1/2 protein kinase pathway activation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(28):11200-11205.

[13] Gaestel M. What goes up must come down: molecular basis of MAPKAP kinase 2/3-dependent regulation of the Minflammatory response and its inhibition[J]. Biol Chem, 2013, 394(10):1301-1315.

[14] Menon MB, Gaestel M. TPL2 meets p38MAPK: emergence of a novel positive feedback loop in inflammation[J]. Bio J, 2016, 473(19):2995.

[15] Ittner A, Block H, Reichel CA, et al. Reichel, et al. Regulation of PTEN activity by p38-PKD1 signaling in neutrophils confers inflammatory responses in the lung[J]. J Exp Med, 2012, 209(12):2229-2246.

[16] 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, 2008, 105(4):1282-1290.

[17] Dolinay T, Wu W, Kaminski N, et al. Mitogen-activated protein kinases regulate susceptibility to ventilator-induced lung injury[J]. PLoS One, 2008, 3(2):e1601.

[18] Damarla M, Parniani AR, Johnston L, et al. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 mediates apoptosis during lung vascular permeability by regulating movement of cleaved caspase 3[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50(5):932-941.

[19] Lee WL, Slutsky AS. Sepsis and endothelial permeability

- [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(7): 689-691.
- [20] Zhang L, Shao H, Zhu T, et al. DDA3 associates with microtubule plus ends and orchestrates microtubule dynamics and directional cell migration[J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 1681.
- [21] Hu JY, Chu ZG, Han J, et al. The p38/MAPK pathway regulates microtubule polymerization through phosphorylation of MAP4 and Op18 in hypoxic cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67(2): 321-333.
- [22] Li L, Hu J, He T, Zhang Q, et al. P38/MAPK contributes to endothelial barrier dysfunction via MAP4 phosphorylation-dependent microtubule disassembly in inflammation-induced acute lung injury[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8895
- [23] Dulos J, Wijnands FP, van den Hurk-van Alebeek JA, et al. p38 inhibition and not MK2 inhibition enhances the secretion of chemokines from TNF- $\alpha$  activated rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2013, 31(4): 515-525.
- [24] Gaestel M, Kotlyarov A, Kracht M, et al. Targeting innate immunity protein kinase signalling in inflammation[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(6): 480-499.
- [25] 杨艺. 急性呼吸窘迫综合征的药物治疗进展[J]. *川北医学院学报*, 2016, 31(3): 443-446.

(收稿日期: 2017-03-18 修回日期: 2017-06-26)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.35.042

## 氧化亚氮临床应用现状及发展\*

潘明园 综述, 田泽丹<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院麻醉科 400016)

[关键词] 氧化亚氮; 麻醉; 全身; 不良反应; 程序性镇静镇痛

[中图分类号] R614

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)35-5025-04

氧化亚氮(N<sub>2</sub>O)又称为笑气, 常温下是一种无色有甜味气体, 是最轻、最简单的无机物麻醉剂。1799年 Humphrey Davy 发现它具有镇痛作用, 并能使人发笑, 取名为笑气, 1844年, 美国牙科医生 Horace Wells 首先将其用于临床拔牙镇痛。如今, 在临床医学中, N<sub>2</sub>O 是一种麻醉气体, 它能够使机体迅速进入麻醉期, 恢复期也相对较短, 可用于各种小手术的镇静镇痛, 但在全身麻醉的应用却逐渐减少。综合近年来研究, 本文简单地阐述了笑气应用现状及发展。

### 1 作用机制

自 N<sub>2</sub>O 被发现以来, 虽然被临床医生应用于麻醉工作中, 但是缺乏作用机制方面的知识, 仅在过去的 20~30 年里才有了关于 N<sub>2</sub>O 镇痛、抗焦虑和麻醉效果的作用机制的研究。

其主要作用机制是抑制中枢兴奋性 NMDA 受体、GABA 受体、脊柱突触后阿片类受体和一些下行通路的蛋白质呈现出镇静镇痛效果<sup>[1]</sup>, N<sub>2</sub>O 的部分镇痛效果可能是以伏隔核壳区的类多巴胺 D2 受体为中介产生的<sup>[2]</sup>。

N<sub>2</sub>O 能产生镇痛的效果还可能跟一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)有关<sup>[3]</sup>, NOS 能刺激氮能神经元释放一氧化氮(nitric oxide, NO), NO 在阿片肽释放中起着关键作用, 有证据表明, NO 可以使氮能神经元在大脑释放各种调节分子, 如兴奋性或者抑制性氨基酸、儿茶酚胺、乙酰胆碱、5-羟色胺、组织胺和腺苷等<sup>[4]</sup>, 这些调节因子能在中枢阻断疼痛产生的作用。

### 2 全身麻醉应用

N<sub>2</sub>O 最小肺泡浓度为 105%, 血/气体分配系数为 0.46, 能迅速出入血液, 应用于全身麻醉能产生较强的镇痛效应, 有效地减轻患者肢体创伤疼痛<sup>[5]</sup>, 减少丙泊酚和维库溴铵的注射痛<sup>[6]</sup>。ENIGMA(Evaluation of Nitrous Oxide in the Gas Mix-

ture for Anaesthesia)研究通过长期回访资料分析表明, 术中使用 N<sub>2</sub>O 能够降低半数以上的慢性术后疼痛发生的概率, 术后疼痛持续 3 个月以上被定义为慢性术后疼痛<sup>[7]</sup>。Bessiere 等<sup>[8]</sup>发现 N<sub>2</sub>O 的使用可以缓解大鼠模型中因大剂量阿片类镇痛物造成的延迟性焦虑<sup>[8]</sup>, 其机制跟抑制 NMDA 受体有关; Echevarria 等<sup>[9]</sup>发现 N<sub>2</sub>O 能减少丙泊酚瑞芬太尼静脉麻醉产生的术后痛觉过敏(opioid induced hyperalgesia, OIH), 这些可能是 N<sub>2</sub>O 能降低慢性术后疼痛的重要原因。

20 世纪 90 年代的研究认为 N<sub>2</sub>O 的使用可以减少术中知晓的发生率<sup>[10]</sup>。Ghoneim 等<sup>[11]</sup>提出了不同的意见, 他认为术中知晓的发生率与 N<sub>2</sub>O 的使用没有关系, 术中知晓相关性最大的应该是麻醉深度。目前最新资料对 N<sub>2</sub>O 是否减少术中知晓也暂无明确结论<sup>[12]</sup>。

关于复苏, ENIGMA 实验随机抽取 2 000 例手术时间超过 2 h 的患者, 结果表明未使用 N<sub>2</sub>O 的组比使用 N<sub>2</sub>O 的组复苏的质量高, 在复苏室停留的时间短<sup>[13]</sup>。经分析复苏质量在一定程度上与术中氧气(O<sub>2</sub>)浓度比例呈正相关, N<sub>2</sub>O 的使用降低了 O<sub>2</sub> 浓度, 导致使用 N<sub>2</sub>O 的组复苏的质量偏低, 而非 N<sub>2</sub>O 的直接影响。

### 3 全身麻醉应用的不良反应

**3.1 消化系统** 术后恶心呕吐(postoperative nausea and vomiting, PONV)是麻醉和手术的常见并发症, 严重的 PONV 大多是综合因素造成的, 年龄大于 55 岁、腹部手术和长时间的麻醉都是产生 PONV 的危险因素。包含 N<sub>2</sub>O 的麻醉方案已经被证实对 PONV 有一定的关系, 一方面由于中枢阿片类受体和多巴胺受体的抑制, 另一方面, N<sub>2</sub>O 弥散到内耳道, 引起

\* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81172122)。 作者简介: 潘明园(1990—), 住院医师, 硕士, 主要从事临床麻醉研究。 △ 通信作者, E-mail: tianzedan@163.com。