

内质网应激在急性呼吸窘迫综合征中的相关研究进展

何飞¹ 蔡楠¹ 王军¹ 吴超²

¹南京大学医学院附属鼓楼医院急诊科 210008; ²南京大学医学院附属鼓楼医院感染科 210008
通信作者: 吴超, Email: chaowu_62@sina.com

【摘要】 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是一种非心源性因素诱发的急性肺水肿,以呼吸窘迫和顽固性低氧血症为显著特征的临床综合征。ARDS的发病机制复杂,全身或局部损害因素可以激活内质网应激(ERs)及未折叠蛋白反应(UPR),进而与炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、自噬和钙稳态失衡等各种损伤机制相互关联,共同加重肺组织损伤。本文通过对ERs在ARDS中的作用机制进行综述,以期加深人们对ARDS发病机制的了解。

【关键词】 内质网应激; 急性呼吸窘迫综合征; 未折叠蛋白反应

基金项目: 国家自然科学基金(81672025); 江苏省南京市医学科技发展资金资助“十三五卫生青年人才培养工程”项目(QRX17124)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.12.026

Advances of endoplasmic reticulum stress in acute respiratory distress syndrome

He Fei¹, Cai Nan¹, Wang Jun¹, Wu Chao²

¹Department of Emergency Medicine, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu, China; ²Department of Infectious Disease, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu, China

Corresponding author: Wu Chao, Email: chaowu_62@sina.com

【Abstract】 Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is an acute pulmonary edema induced by non-cardiac factors and a clinical syndrome characterized by respiratory distress and refractory hypoxemia. The pathogenesis of ARDS is complex. Systemic or local damaging factors can aggravate the inflammatory injury of lung tissue dependent on the activation of endoplasmic reticulum stress (ERs) and unfolded protein responses (UPR) and correlation with various damaging mechanisms such as inflammatory response, oxidative stress, apoptosis, autophagy, and calcium homeostasis. This article reviews the progress of ERs associated with ARDS to help us understand the pathogenesis of ARDS.

【Key words】 Endoplasmic reticulum stress; Acute respiratory distress syndrome; Unfolded protein response

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81672025); Nanjing Medical Science and Technique Development Foundation of China (QRX17124)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.12.026

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是一种非心源性因素诱发的急性肺水肿,是以呼吸窘迫和顽固性低氧血症为显著特征的临床综合征,虽然ARDS的救治技术不断改进,但其病死率仍居高不下^[1]。ARDS的发病机制复杂,全身或局部损害因素可以激活内质网应激(ERs)及未折叠蛋白反应(UPR),进而介导氧化应激、炎症反应、凋亡、自噬等损伤机制,最终导致肺组织结构破坏以及功能恶化^[1-2]。现就ERs在ARDS中的作用机制进行综述,以期加深人们对ARDS发病机制的理解。

1 ERs 和 UPR

当引起蛋白质折叠生理需求增多或蛋白质折叠负荷增加的外界刺激持续存在时,内质网内在处理能力相对不足,导致未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网中累积,从而激活ERs^[3]。此时,为了确保机体的蛋白质稳态,通过激活UPR来停止蛋白质翻译和增加异常蛋白质降解,从而缓解失控的ERs给机体带来的损害^[4]。UPR信号通路包含3种内质网跨膜蛋白传感器,即肌醇需求因子1 α (IRE1 α)、蛋白激酶R样内质网激酶(PERK)和激活转录因子6(ATF6)。正常

情况下,这3种跨膜传感器蛋白与内质网伴侣免疫球蛋白重链结合蛋白(Bip)相结合并处于失活状态。当ERs发生时,Bip能与未折叠或错误折叠的蛋白质相结合,激活3种跨膜传感器,试图通过UPR恢复机体蛋白质稳态^[5]。然而,当损害因素持续存在时,UPR则会诱导损伤机制造成机体伤害,如炎症反应、氧化应激等。

2 ERs 和炎症反应在ARDS中的作用机制

在病理状态下,ERs诱导炎症反应,后者又会进一步激活ERs,这种正反馈式的损伤“瀑布”效应最终破坏肺组织中的蛋白质稳态,加剧肺组织的炎症压力,并造成肺组织中多种免疫细胞代谢的恶化^[4,6]。Kim等^[7]发现,脂多糖(LPS)气管滴注可使小鼠肺组织中炎症细胞和促炎介质增加,并伴有UPR蛋白[剪切底物编码X框结合蛋白1(XBP-1)、ATF4等]水平升高;当给予ERs抑制剂4-苯丁酸(4-PBA)干预后,蛋白表达减少,肺组织损伤减轻,同时,4-PBA还阻断了肺组织中核转录因子- κ B(NF- κ B)抑制因子(I κ B α)降解和NF- κ B表达增加,抑制炎症介质表达。这说明ERs是诱导和维持ARDS中肺组织炎症损伤的重要因素。同样,在

盲肠结扎穿孔术 (CLP) 诱导 ARDS 小鼠的肺组织中, ERs 信号通路蛋白〔葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、IRE1 α 和 ATF6〕表达水平升高, 肺组织炎性损伤严重; 研究人员进一步使用 LPS 体外刺激肺泡上皮细胞时发现, ERs 蛋白水平显著增加^[8]。另外, 肺组织局部失控的炎性因子“风暴”还可以进一步激活 ERs, 通过诱导肺组织细胞凋亡, 破坏肺组织的结构及功能^[9]。

肺脏是由内皮细胞、上皮细胞、间充质细胞、巨噬细胞等多种类型细胞组成、负责气体交换的器官。其中, 肺泡巨噬细胞作为重要的免疫细胞, 能够吞噬灰尘、细菌和致敏原, 维持肺组织局部免疫稳态^[10]。当损害因素持续作用并激活肺组织的 ERs, 诱导肺泡巨噬细胞凋亡, 将加重肺组织损伤^[11]。此外, 免疫细胞自身也需要通过内质网合成和运输大量蛋白, 其对内质网的蛋白质稳态变化敏感。当机体炎症压力增大时, ERs 可激活免疫细胞, 通过释放炎性介质进一步加剧损伤^[4,6]。研究表明, 在一些非感染条件下, 如高氧损伤, ERs 能够介导肺泡上皮细胞以释放“囊泡”的形式促使肺泡巨噬细胞产生趋化细胞因子, 如白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等, 诱导中性粒细胞和单核细胞募集, 加重肺损伤^[12]。同样, 中性粒细胞过度激活并在肺部浸润也是炎症性疾病的特征性表现, 其通过释放炎性介质参与 ARDS 的损伤过程。Hu 等^[13]检测到 ARDS 小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中中性粒细胞补体 C5a 受体表达上调, 其与 BALF 中的补体 C5a 结合激活 ERs, 通过 PERK 和 IRE1 α 信号通路促进中性粒细胞产生炎性介质加重肺损伤。

肺泡-毛细血管屏障是肺组织维持正常气体交换的基础。在某些医源性环境中, 如呼吸机参数设置不当, 导致肺泡上皮细胞过度牵拉受损, 屏障通透性增加、肺组织充血水肿, 进而出现顽固性低氧血症, 这是呼吸机相关性肺损伤 (VILI) 特有的病理生理改变^[14]。研究显示, 大鼠肺泡上皮细胞的过度牵拉会激活 PERK 信号通路并释放炎性介质 IL-18, 导致细胞死亡; 而在体内实验中, PERK 抑制剂能明显减弱大鼠肺组织 ERs 和炎症反应, 改善机械通气造成的肺损伤^[15]。这提示 ERs 与炎症的相互关联在 VILI 的病理生理过程中亦扮演着重要的角色, 其对人们深入理解 VILI 的发病机制具有重要意义。

3 ERs 和凋亡在 ARDS 中的作用机制

随着研究的深入, 人们发现激活的 ERs 可诱导肺组织细胞凋亡, 最终导致 ARDS 早期肺泡-毛细血管屏障的破坏和中后期肺纤维化的发生, 这可能是 ARDS 疾病进展和加重的关键^[16]。其中, 对 PERK 促凋亡信号通路〔PERK/真核翻译起始因子 2 α (eIF2 α)/ATF4〕关注较多, 即 PERK 诱导 eIF2 α 磷酸化, 通过激活 ATF4 介导转录因子 C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 表达, 最终导致细胞凋亡。研究已证实, PERK 信号通路可以诱导肺泡上皮细胞和肺微血管内皮细胞凋亡, 使肺组织的结构破坏和功能恶化^[17-18]。

同样, 活化的 IRE1 α 能够通过 XBP-1 形成有活性的转录因子 XBP1s, 进而磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶并激活 CHOP

和凋亡蛋白酶, 最终诱导细胞凋亡^[19]。国外研究人员已在 CLP 诱导 ARDS 大鼠的肺组织中检测到 IRE1 α 信号通路蛋白〔磷酸化肌醇需求因子 α (pIRE α)、sXBP-1 及 CHOP〕和凋亡标志物表达水平升高, 同时伴有肺微血管内皮细胞凋亡率增加^[20]。国内学者亦在创伤诱导 ARDS 的研究中发现, 模型大鼠肺组织中的 IRE1 α 、CHOP 和 caspase-12 蛋白表达水平上升^[21]。上述结果皆提示 IRE1 α 信号通路诱导的细胞凋亡也参与了 ARDS 的发病过程。

4 ERs 和氧化应激反应在 ARDS 中的作用机制

机体内活性氧产生和降解的平衡被打破, 或过量活性氧进入体内皆可诱导失控的氧化应激发生, 从而破坏机体蛋白质稳态并激活 ERs。与此同时, 激活的 ERs 亦可诱导大量氧自由基积聚, 进一步造成机体损伤^[6]。早期的研究表明, 缺氧/复氧 (H/R) 可引发失控的氧化应激反应, 激活 ERs 并加剧肺组织损伤^[22]。随着研究的深入, 人们发现海水刺激和脓毒症诱导的 ARDS 大鼠, 肺组织中的氧化应激反应和 ERs 皆被激活, 并伴有肺组织结构和功能的破坏^[18,23]。当分别用乙酰半胱氨酸 (一种抗氧化剂) 和 4-PBA 对 ARDS 大鼠进行干预后, 肺组织中的氧化应激反应和 ERs 皆随对方的抑制而减弱, 并且改善了肺组织的损伤程度^[23]。值得注意的是, ERs 和氧化应激反应之间的相互作用亦可激活炎症反应, 进一步加重肺组织的炎性损伤和功能障碍^[6]。

5 ERs 和自噬在 ARDS 中的作用机制

自噬是通过溶酶体降解途径处理受损细胞器或变性蛋白质的细胞过程, 最终实现细胞自身的代谢需要和部分细胞器的更新。自噬可保护细胞免受内外源性刺激而死亡。但过度激活的自噬亦可成为促进细胞死亡的替代机制^[24]。既往研究表明, ERs 和自噬在细胞存亡中扮演着不同的角色^[25], 因此, 二者的相互关系在 ARDS 的发病机制中所起的作用仍然存在争议。Li 等^[24]使用 LPS 激活肺泡上皮细胞中的 ERs, 导致细胞活性下降和自噬性死亡; 而使用 4-PBA 预处理后, 上述现象得到明显改善; 进一步研究结果提示, LPS 诱导肺泡上皮细胞的自噬性死亡是通过 PERK 信号通路实现的。然而 Zeng 等^[26]发现, ERs 介导自噬激活可能对肺泡上皮细胞起保护作用, 研究者使用 4-PBA 干预 LPS 预处理的肺泡上皮细胞, 结果显示 4-PBA 能抑制 ERs 和自噬的激活, 最终导致肺泡上皮细胞的炎性损伤加重。此外, 有研究显示, 自噬激活亦有利于减轻 H/R 条件下 ERs 激活后造成的肺泡上皮细胞损伤^[27]。H/R 诱导肺损伤早期, 自噬可以降低肺泡巨噬细胞 ERs 水平, 减少细胞凋亡, 从而维持肺组织局部免疫稳态以减轻肺损伤^[28]。

6 ERs 和钙稳态在 ARDS 中的作用机制

内质网是钙离子储存的主要场所, 钙离子浓度的改变可参与多种细胞信号转导途径和生物学效应, 其中就包括 ERs^[29]。研究显示, 肺泡上皮细胞中的钙选择性离子通道激活, 导致内质网中钙离子浓度波动, 从而激活 ERs, 并通过 PERK 信号通路抑制抗凋亡蛋白的表达, 进而诱导细胞死亡^[30]。同样, Xu 等^[31]发现, 百草枯可诱导肺泡上皮细胞内钙

离子浓度变化,进而激活 ERs,最终导致肺泡上皮细胞凋亡。

7 结论

在过去的几十年中,不断涌现出新的研究证据证实 ERs 不仅维持了机体蛋白质稳态环境,还参与了多种细胞生理过程的调节。在正常情况下,ERs 信号通路组分之间的协同作用维持炎症损伤后的肺组织蛋白质稳态,然而,当外界损伤因素持续存在时,ERs 各信号通路将与炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、自噬等各种损伤机制相互关联,共同加重肺组织炎症损伤。因此,ERs 及其激活的 UPR 信号通路可能成为 ARDS 发病机制探索中的新领域,并且深入了解二者与炎症反应、氧化应激、凋亡级联等损伤机制启动的相互作用,或可为 ARDS 的救治提供新靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377 (6): 562–572. DOI: 10.1056/NEJMr1608077.
- [2] Sweeney RM, McAuley DF. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet*, 2016, 388 (10058): 2416–2430. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00578-X.
- [3] 姚咏明, 祝筱梅. 提高内质网应激在脓毒症中作用和意义的认识 [J]. *中华危重病急救医学*, 2010, 22 (9): 513–515. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.09.001.
Yao YM, Zhu XM. Pay emphasis on the significance and potential role of endoplasmic reticulum stress in sepsis [J]. *Chin Care Med*, 2010, 22 (9): 513–515. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.09.001.
- [4] Zhang K, Kaufman RJ. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response [J]. *Nature*, 2008, 454 (7203): 455–462. DOI: 10.1038/nature07203.
- [5] Bettigole SE, Glimcher LH. Endoplasmic reticulum stress in immunity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2015, 33: 107–138. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112116.
- [6] Chen AC, Burr L, McGuckin MA. Oxidative and endoplasmic reticulum stress in respiratory disease [J]. *Clin Transl Immunology*, 2018, 7 (6): e1019. DOI: 10.1002/cti2.1019.
- [7] Kim HJ, Jeong JS, Kim SR, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress alleviates lipopolysaccharide-induced lung inflammation through modulation of NF- κ B/HIF-1 α signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 1142. DOI: 10.1038/srep01142.
- [8] Wang QL, Yang L, Peng Y, et al. Ginsenoside Rg1 regulates SIRT1 to ameliorate sepsis-induced lung inflammation and injury via inhibiting endoplasmic reticulum stress and inflammation [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 6453296. DOI: 10.1155/2019/6453296.
- [9] Kim SR, Kim HJ, Kim DL, et al. Blockade of interplay between IL-17A and endoplasmic reticulum stress attenuates LPS-induced lung injury [J]. *Theranostics*, 2015, 5 (12): 1343–1362. DOI: 10.7150/thno.11685.
- [10] Osorio F, Lambrecht B, Janssens S. The UPR and lung disease [J]. *Semin Immunopathol*, 2013, 35 (3): 293–306. DOI: 10.1007/s00281-013-0368-6.
- [11] Fan T, Huang Z, Wang W, et al. Proteasome inhibition promotes autophagy and protects from endoplasmic reticulum stress in rat alveolar macrophages exposed to hypoxia-reoxygenation injury [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233 (10): 6748–6758. DOI: 10.1002/jcp.26516.
- [12] Moon HG, Cao Y, Yang J, et al. Lung epithelial cell-derived extracellular vesicles activate macrophage-mediated inflammatory responses via ROCK1 pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e2016. DOI: 10.1038/cddis.2015.282.
- [13] Hu R, Chen ZF, Yan J, et al. Endoplasmic reticulum stress of neutrophils is required for ischemia/reperfusion-induced acute lung injury [J]. *J Immunol*, 2015, 195 (10): 4802–4809. DOI: 10.4049/jimmunol.1500073.
- [14] Lecuona E, Sznajder JI. Stretching to understand how proteostasis and the unfolded protein response regulate lung injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 57 (2): 143–144. DOI: 10.1165/rmb.2017-0170ED.
- [15] Dolinay T, Himes BE, Shumyatcher M, et al. Integrated stress response mediates epithelial injury in mechanical ventilation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 57 (2): 193–203. DOI: 10.1165/rmb.2016-0404OC.
- [16] Gouda MM, Shaikh SB, Bhandary YP. Inflammatory and fibrinolytic system in acute respiratory distress syndrome [J]. *Lung*, 2018, 196 (5): 609–616. DOI: 10.1007/s00408-018-0150-6.
- [17] Liu W, Liu K, Zhang S, et al. Tetramethylpyrazine howed therapeutic effects on sepsis-induced acute lung injury in rats by inhibiting endoplasmic reticulum stress protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) signaling-induced apoptosis of pulmonary microvascular endothelial cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1225–1231. DOI: 10.12659/msm.908616.
- [18] Chen X, Wang Y, Xie X, et al. Heme oxygenase-1 reduces sepsis-induced endoplasmic reticulum stress and acute lung injury [J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 9413876. DOI: 10.1155/2018/9413876.
- [19] Grootjans J, Kaser A, Kaufman RJ, et al. The unfolded protein response in immunity and inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16 (8): 469–484. DOI: 10.1038/nri.2016.62.
- [20] Khan MM, Yang WL, Brenner M, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) causes sepsis-associated acute lung injury via induction of endoplasmic reticulum stress [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41363. DOI: 10.1038/srep41363.
- [21] 陆建锋, 张庆婕, 李雪豪, 等. HMGB1 在创伤引起大鼠肺组织内质网应激中的作用 [J]. *法医学杂志*, 2018, 34 (4): 347–351. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2018.04.001.
Lu JF, Zhang QJ, Li XH, et al. Role of HMGB1 in post-traumatic endoplasmic reticulum stress in rat lung tissues [J]. *J Forensic Med*, 2018, 34 (4): 347–351. DOI: 10.12116/j.issn.1004-5619.2018.04.001.
- [22] Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 282 (2): C227–241. DOI: 10.1152/ajpcell.00112.2001.
- [23] Li PC, Wang BR, Li CC, et al. Seawater inhalation induces acute lung injury via ROS generation and the endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41 (5): 2505–2516. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3486.
- [24] Li S, Guo L, Qian P, et al. Lipopolysaccharide induces autophagic cell death through the PERK-dependent branch of the unfolded protein response in human alveolar epithelial A549 cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36 (6): 2403–2417. DOI: 10.1159/000430202.
- [25] Ding WX, Ni HM, Gao W, et al. Differential effects of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy on cell survival [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282 (7): 4702–4710. DOI: 10.1074/jbc.M609267200.
- [26] Zeng M, Sang W, Chen S, et al. 4-PBA inhibits LPS-induced inflammation through regulating ER stress and autophagy in acute lung injury models [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 271: 26–37. DOI: 10.1016/j.toxlet.2017.02.023.
- [27] Fan T, Chen L, Huang Z, et al. Autophagy activation by rapamycin before hypoxia-reoxygenation reduces endoplasmic reticulum stress in alveolar epithelial cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41 (1): 79–90. DOI: 10.1159/000455953.
- [28] Fan T, Chen L, Huang Z, et al. Autophagy decreases alveolar macrophage apoptosis by attenuating endoplasmic reticulum stress and oxidative stress [J]. *Oncotarget*, 2016, 7 (52): 87206–87218. DOI: 10.18632/oncotarget.13560.
- [29] Carreras-Sureda A, Pihán P, Hetz C. Calcium signaling at the endoplasmic reticulum: fine-tuning stress responses [J]. *Cell Calcium*, 2018, 70: 24–31. DOI: 10.1016/j.ceca.2017.08.004.
- [30] Thomas KC, Sabnis AS, Johansen ME, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 agonists cause endoplasmic reticulum stress and cell death in human lung cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007, 321 (3): 830–838. DOI: 10.1124/jpet.107.119412.
- [31] Xu Y, Sun D, Song C, et al. MnTMPyP inhibits paraquat-induced pulmonary epithelial-like cell injury by inhibiting oxidative stress [J]. *J Toxicol Sci*, 2018, 43 (9): 545–555. DOI: 10.2131/jts.43.545.

(收稿日期: 2019-07-25)