

- One, 2012, 7 (10): e48397.
- [30] Hampson E C, Effene D J, Pond S M, *et al.* Efficacy of single or repeated hemoperfusion in a canine model of paraquat poisoning [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1990, 254 (2): 732-740.
- [31] Pond S M, Rivory L P. Kinetics of toxic doses of paraquat and the effects of hemoperfusion in the dog [J]. Toxicol Clin Toxicol, 1993, 31 (2): 229-246.
- [32] 曹钰, 余海敏, 胡海. 急性中毒时间发生特点分布 [J]. 四川医学, 2005, 26 (5): 5-9.
- [33] 许鸣华, 张海松, 梁伟, 等. 血液灌流次数及开始灌流时间对百草枯中毒患者预后的影响 [J]. 山东医学, 2008, 48 (4): 91-92.
- [34] 唐文华, 薛金鸾, 刘文国. 重度百草枯中毒施救成功 9 例临床分析 [J]. 山东医药, 2006, 46 (34): 39.
- [35] Castro R, Prata C, Oliveira L, *et al.* Paraquat intoxication and hemocarboperfusion [J]. Acta Med Port, 2005, 18 (6): 423-431.
- [36] Senarathna L, Eddleston M, Wilks M F, *et al.* Prediction of outcome after paraquat poisoning by measurement of the plasma paraquat concentration [J]. QJM, 2009, 102 (4): 251-259.
- [37] Nakamura T, Ushiyama C. Changes in concentrations of type IV collagen and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in patients with paraquat poisoning [J]. Appl Toxicol, 2001, 21 (6): 445-447.

内质网应激与中毒

彭礼波, 章开容 (综述), 张志坚 (审校)

(重庆市巴南区人民医院 ICU, 重庆 401320)

摘要: 内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是细胞内最重要的细胞器之一, 内质网功能与细胞状态密切相关。异常蛋白在内质网内堆积、钙离子代谢紊乱、胆固醇代谢异常等均导致内质网应激, 内质网应激在细胞生理病理中发挥重要作用。研究表明内质网应激与中毒相关性密切, 该文简要概述了内质网应激与中毒之间的关系。

关键词: 内质网 (ER); 应激; 中毒

中图分类号: R99; R135.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-221X(2013)06-0429-03

Endoplasmic reticulum stress and poisoning

PENG Li-bo, ZHANG Kai-rong, ZHANG Zhi-jian

(ICU, Banan District People's Hospital, Chongqing 401320, China)

Abstract: Endoplasmic reticulum (ER) is one of the most important organelles in cells. ER is closely related to the state of cells. The accumulating of unfolded or malfolded proteins in ER, the metabolic disorder of calcium and the abnormal cholesterol metabolism could all evoke ER stress. Abnormal ER stress plays important role in cell pathophysiological processes, studies have been showed that ER stress also involved in poisoning. This article will briefly review the function of ER and the relationship between ER stress and poisoning.

Key words: endoplasmic reticulum (ER); stress; poisoning

内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是哺乳动物细胞重要的 Ca^{2+} 贮存器, 也是蛋白质合成与翻译后修饰、多肽链正确折叠与装配、参与脂质代谢和类固醇激素合成的重要场所。应激因素作用于机体后, 内质网通过一系列自身调节力使内质网恢复稳态的过程称为内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS)^[1-2]。ERS 具有双重作用, 一定程度的 ERS 能激活机体保护机制, 但过度的 ERS 将激活多条信号通路诱导细胞凋亡。

1 内质网应激与细胞应答信号通路

不同应激因素作用于机体后的一个共同特征就是导致内质网腔中未折叠或错误折叠蛋白的积聚, 诱导 ERS 的发生。哺乳动物细胞的 ERS 有 4 种主要表现^[3]: 减少蛋白质的合成, 减轻未折叠蛋白的进一步积聚; 诱导内质网伴侣分子的表达,

增加内质网蛋白质折叠的能力; 激活泛素蛋白酶体系统和自噬作用, 增加降解和清除蛋白的能力; 诱导因蛋白质折叠错误及细胞功能失常的应激反应细胞的凋亡。内质网对错误折叠蛋白质的处理是将其转运到胞浆, 通过泛素蛋白酶系统降解来维持内质网稳态。当内质网内错误折叠蛋白质增多超过内质网相关降解能力, 将激活跨膜信号分子启动内质网应激信号转导。ERS 早期错误信号转导促进细胞存活主要通过下列三条信号通路^[4]: (1) 蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R [PKR]-like ER kinase, PERK), 使真核细胞转录启动因子 (eukaryotic translation initiation factor 2α eIF2 α) 磷酸化, 抑制正常蛋白质合成, 减轻新合成蛋白的进一步堆积, 同时增加分子伴侣葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulating protein 78, GRP78) 合成, 增强内质网对未折叠蛋白处理能力; (2) 内质网跨膜转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 激活促进 X 盒结合蛋白 1 (X-box binding protein 1, XBP1) 转录, 增加 XBP1 蛋白表达, XBP1 蛋白增加分子伴侣 GRP78 合成; (3) 需骨醇激酶 1 (inositol-requiring kinase-1,

收稿日期: 2013-04-23; 修回日期: 2013-05-30

基金项目: 重庆市卫生局科研项目 (2012-2-419)

作者简介: 彭礼波 (1971—), 男, 主治医师, 主要从事急性中毒及危重症基础临床研究。

通讯作者: 张志坚, 男, 主治医师。

IRE1) 激活后可以促进 XBP1 mRNA 剪切, 生成成熟 XBP1 mRNA。XBP1 蛋白顺式反应元件结合促进 GRP78 表达。内质网稳态失衡可通过激活 PERK-GADD 153/CHOP 信号通路, IRE1-TRAF2-JNK/SPAK 信号通路, 内质网膜 caspase-12 活化途径诱导细胞凋亡^[5-7]。

2 内质网应激与中毒

2.1 有机磷农药

刘承芸等^[8]在敌百虫慢性毒性作用机制研究中建立人成神经瘤细胞 SH-SY5Y 体外模型, 结果发现敌百虫呈浓度依赖性抑制细胞生长。用钙通道阻断剂 verapamil 和钙离子螯合剂 EGTA 与敌百虫共同作用细胞后, 细胞内 Ca^{2+} 浓度水平与敌百虫单独处理时相当。表示敌百虫可抑制 SH-SY5Y 细胞生长, 诱导细胞凋亡, 阻滞细胞由 G2 期向 M 期转变, 诱导细胞钙稳态失衡, 导致细胞内游离钙离子浓度升高。推测敌百虫可通过诱导 ERS 导致细胞凋亡。

2.2 汞

张叶等^[9]研究发现, 大鼠各个肺区 GRP78 蛋白在甲基汞染毒后均出现一致的先升后降的变化趋势, 从 0.5 h 开始升高, 6~12 h 达高峰, 24 h 接近对照组水平。提示 ERS 与甲基汞急性中毒有一定关系。Qian 等^[10]在体外实验中用氯化汞处理 C6 细胞 7 d, 发现仅仅 $1 \mu\text{mol/L}$ 的 Hg 就可引起 GRP78 mRNA 水平显著升高。Usuki 等^[11]研究发现甲基汞暴露 14~16 h 的凋亡细胞中检测到 caspase-12 被显著激活。

2.3 锰

Tamm C 等^[12]证实锰通过线粒体介导的途径引起细胞凋亡。Yin Z 等^[13]研究发现锰暴露神经胶质细胞的凋亡过程中, caspase-3 明显活化。Calinga 等^[14]证实锰使黑质多巴胺能神经细胞 4741 凋亡是 ERS 异常的结果, 其中多种 caspase 效应因子, 如 caspase-1、caspase-8、caspase-9 参与其中。

2.4 氟

孙景春等^[15]研究发现, 低钙加氟组和常食加氟组大鼠肾组织 XBP1 表达较对照组明显增强, 低钙加氟组大鼠肾组织 GRP78 mRNA 表达较常食加氟组和低钙对照组明显增强; 而低钙加氟组大鼠肾组织 PDI 的表达较常食加氟组明显下降。各组大鼠肾组织 CHOP 表达差异无显著性。结果提示低钙营养进一步加剧氟对肾的损伤作用, 而 ERS 参与损伤机制。

2.5 铅

张莹等^[16]对暴露于不同剂量醋酸铅后大鼠神经胶质瘤 C6 细胞 GRP78 表达量进行研究。发现低剂量染铅组 GRP78 蛋白在第 7、30 天表达显著增高; 中剂量染铅组 GRP78 蛋白在 1 d 后表达显著增高, 30 d 时达染铅前 6.3 倍; 高剂量染铅组 GRP78 蛋白在 0.5 h 起表达量即显著增高, 7 d 时为染铅前的 4.3 倍, 30 d 时为染铅前的 2.6 倍。提示铅可使大鼠神经胶质瘤细胞内质网上的 GRP78 蛋白应激性表达增加。

2.6 铝

Ghribi 等^[17]在兔腹腔注射含铝 25 mmol/L 的 AlCl_3 溶液 15 d 后, 海马 GADD153 和转录因子 NF- κ B 的核转位增多。伴随着这两种蛋白的核转位, Bcl-2 的表达水平降低, 而且铝可

激发内质网特异调节蛋白 caspase-12 的活力。张勤丽等^[18]发现, 氯化铝能诱导神经元凋亡, 并能引起内质网的变形肿胀及脱颗粒现象, 提示铝对内质网可产生应激效应。

2.7 铁

Lou 等^[19]发现慢性铁超负荷大鼠心脏及肝脏中铁水平分别为对照组的 2 倍和 7.8 倍, GRP78、caspase12 表达明显增加; 急性铁超负荷组心脏、肝脏组织中 GRP78、caspase12 表达较对照组明显增加。上述结果表明 ERS 在铁超负荷后组织细胞损伤中有重要作用。

2.8 铬

Sreejayan 等^[20]发现肥胖小鼠内质网下游蛋白 (p-PERK、p-IRE 和 p-eIF2 α) 表达较对照组明显增高; 而给予 D-型苯基丙氨酸铬 [$\text{Cr}(\text{D-phe})_3$] 处理后上述蛋白表达量明显减少。进一步研究发现 $\text{Cr}(\text{D-phe})_3$ 能抑制毒胡萝卜素诱导肌管 ERS 后 p-eIF2 α 表达, 均提示调节 ERS 可能是铬的保护作用机制之一。

2.9 铀、镍

Miller 等^[21]发现经贫铀或镍处理后的 HepG2 细胞, ERS 标志性蛋白 GRP78 表达明显上调, 并且具有剂量依赖性。

2.10 亚硝酸盐

Lin^[22]等研究发现亚硝酸盐能通过增加大鼠黑质部分转录因子 4 (ATF-4)、IRE1-X 盒结合蛋白-1 (XBP-1)、CHOP 水平, 降低 caspase-12 水平来诱导大鼠中枢神经系统退行性变。

2.11 乙醇

乙醇可导致高同型半胱氨酸 (hyperhomocysteinemia, HHcy) 血症来诱发肝脏 ERS, 继而诱导肝细胞凋亡^[23]。乙醇喂养的豚鼠模型中发现肝细胞脂肪变性和凋亡伴随细胞色素 P450 (CYP2E1)、GRP78, SREBP-1c 在转录及蛋白表达水平增高, caspase-12 激活^[24]。最近有研究显示大鼠肝硬化模型部分未折叠蛋白反应依赖于基础状态的 eIF2 α 的激活, 而充分的未折叠蛋白反应则依赖于 LPS 免疫反应后的 IRE1、ATF-6 和 eIF2 α 的激活^[25]。

2.12 卡那霉素

卡那霉素可导致大鼠耳蜗毛细胞丢失, 诱导大鼠听力损失。经卡那霉素处理后的耳蜗组织内外毛细胞和螺旋神经元中 caspase-12 表达明显增加。卡那霉素导致耳蜗神经元细胞内钙增加, calpain-2 表达增高, caspase-12、caspase-9、caspase-3 活性增强, 而 calpain 抑制剂能降低 caspase-12 活性, 保护耳蜗毛细胞存活, 提示 caspase-12 启动的内质网细胞凋亡途径参与卡那霉素耳毒性机制^[26]。

3 结语

随着对内质网应激机制的深入研究, 抗内质网过度应激治疗方法的体内外研究越来越多, 今后中毒性疾病的调节内质网应激治疗方法的应用, 将是一个新的科研课题, 值得进一步探索研究。

参考文献:

- [1] Zhang C, Wang G, Zheng Z, et al. Endoplasmic reticulum-tethered transcription factor cAMP responsive element-binding protein, hepato-

- cyte specific, regulates hepatic lipogenesis, fatty acid oxidation, and lipolysis upon metabolic stress in mice [J]. *Hepatology*, 2012, 55 (4): 1070-1082.
- [2] Satoh T, Abiru N, Kobayashi M, *et al.* CHOP deletion does not impact the development of diabetes but suppresses the early production of insulin autoantibody in the NOD mouse [J]. *Apoptosis*, 2011, 16 (4): 438-448.
- [3] Wu J, Kaufman R J. From acute ER stress physiological roles of the unfolded protein response [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13 (3): 374-384.
- [4] Ma Y, Brewer J W, Diehl J A, *et al.* Two distinct stress signaling pathways converge upon the CHOP promoter during the mammalian unfolded protein response [J]. *J Mol Biol*, 2002, 318 (5): 1351-1365.
- [5] Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, *et al.* ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats [J]. *Genes Dev*, 2002, 16 (11): 1345-1355.
- [6] Doroudgar S, Thuermer D J, Marcinko M C, *et al.* Ischemia activates the ATF6 branch of the endoplasmic reticulum stress response [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (43): 29735-29745.
- [7] Zhang G G, Teng X, Liu Y, *et al.* Inhibition of endoplasmic reticulum stress by ghrelin protects against ischemia/reperfusion injury in rat heart [J]. *Peptides*, 2009, 30 (6): 1109-1116.
- [8] 刘承芸, 李薇, 伍一军. 敌百虫诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的研究 [J]. *毒理学杂志*, 2005, 19 (3): 280.
- [9] 张叶, 蒋旭超, 赵小武, 等. 甲基汞急性暴露诱导大鼠内质网应激的脑区特异性及时间效应特征研究 [J]. *卫生研究*, 2010, 39 (3): 271-274.
- [10] Qian Y, Falahatpisheh M H, Zheng Y, *et al.* Induction of 78 kD glucoseregulated protein (GRP78) expression and redox-regulated transcription factor activity by lead and mercury in C6 rat glioma cells [J]. *Neurotox Res*, 2001, 3 (6): 581-589.
- [11] Usuki F, Fujita E, Sasagawa N. Methylmercury activates ASK1/JNK signaling pathways, leading to apoptosis due to both mitochondria- and endoplasmic reticulum (ER)-generated processes in myogenic cell lines [J]. *Neurotoxicology*, 2008, 29 (1): 22-30.
- [12] Tamm C, Sabri F, Ceccatelli S. Mitochondrial-mediated apoptosis in neural stem cells exposed to manganese [J]. *Toxicol Sci*, 2008, 101 (2): 310-320.
- [13] Yin Z, Aschner J L, dos Santos A P, *et al.* Mitochondrial-dependent manganese neurotoxicity in rat primary astrocyte cultures [J]. *Brain Res*, 2008, 1203: 1-11.
- [14] Calinga N Y, Chun W J, Park L C, *et al.* Manganese-induced cytotoxicity in dopamine-producing cells [J]. *Neurotoxicology*, 2004, 25 (4): 543-553.
- [15] 孙景春, 王春艳, 徐辉, 等. 内质网应激在氟中毒大鼠肾损害中的作用 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2009, 35 (6): 992-995.
- [16] 张莹, 孙黎光, 侯伟健, 等. 铅对大鼠 C6 细胞 GRP78 表达的影响 [J]. *毒理学杂志*, 2006, 20 (5): 294-296.
- [17] Ghribi O, Herman M M, DeWitt D A, *et al.* Abeta (1-42) and aluminum induce stress in the endoplasmic reticulum in rabbit hippocampus, involving nuclear translocation of gad 153 and NF-kappaB [J]. *Brain Res Mol Res*, 2001, 96 (1-2): 30-38.
- [18] 张勤丽, 王芳, 石樱桃, 等. 脂质过氧化损伤及内质网应激在铝致神经细胞凋亡中的作用机制 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2008, 26 (3): 143-146.
- [19] Lou L X, Geng B, Chen Y, *et al.* Endoplasmic reticulum stress involved in heart and liver injury in iron-loaded rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36 (7): 612-618.
- [20] Sreejayan N, Dong F, Kandadi M R, *et al.* Chromium alleviates glucose intolerance, insulin resistance, and hepatic ER stress in obese mice [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16 (6): 1331-1337.
- [21] Miller A C, Brooks K, Smith J, *et al.* Effect of the military-relevant heavy metals, depleted uranium and heavy metal tungsten-alloy on gene expression in human liver carcinoma cells (HepG2) [J]. *Mol Cell Biochem*, 2004, 255 (1-2): 247-256.
- [22] Lin A M, Chao P L, Fang S F, *et al.* Endoplasmic reticulum stress is involved in arsenite-induced oxidative injury in rat brain [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007, 224 (2): 138-146.
- [23] Blasco C, Caballeria J, Deulofeu R, *et al.* Prevalence and mechanisms of hyperhomocysteinemia in chronic alcoholics [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2005, 29 (6): 1044-1048.
- [24] Kruse K B, Dear A, Kaltenbrun E R, *et al.* Mutant fibrinogen cleared from the endoplasmic reticulum via endoplasmic reticulum associated protein degradation and autophagy: an explanation for liver disease [J]. *Am J Pathol*, 2006, 168 (4): 1299-1308.
- [25] Tazi K A, Bieche I, Paradis V, *et al.* In vivo altered unfolded protein response and apoptosis in livers from lipopolysaccharide-challenged cirrhotic rats [J]. *Hepatology*, 2007, 46 (6): 1075-1088.
- [26] 李婷钰, 王苹, 杜宝东, 等. 卡那霉素对离体培养大鼠耳蜗毛细胞损害的实验研究 [J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30 (1): 56-58.

(上接第 422 页)

参考文献:

- [1] 赵燕燕, 刘会芳, 许鸣华, 等. 百草枯中毒的急救与影响愈后的因素分析 [J]. *中国急救医学*, 2007, 27 (8): 733.
- [2] 刘海英, 展晖. 百草枯中毒患者心肌酶活力变化及意义 [J]. *中国急救医学*, 2006, 26 (4): 308-309.
- [3] 菅向东, 隋宏, 楚中华, 等. 急性百草枯中毒血清细胞因子动态变化 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2007, 25 (4): 230-232.
- [4] 高艳敏, 赵雄, 丁佳, 等. 百草枯中毒大鼠的肝损伤及抗氧化药

物对其保护作用 [J]. *肝脏*, 2009, 14: 210-213.

- [5] 阮艳君, 菅向东, 郭广冉. 急性百草枯中毒发病机制及治疗的研究进展 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2009, 27 (2): 114-116.
- [6] 聂时南. 百草枯中毒及预后影响因素分析 [J]. *医学研究生学报*, 2009, 22 (10): 1010-1011.
- [7] 王永进, 王泽惠. 百草枯中毒治疗的研究进展 [J]. *中国急救医学*, 2003, 23 (6): 404-405.