

JNK/c-jun 在肝脏应激与损伤中的研究进展

Role of JNK/c-jun in liver stress and injury

李文兵¹ 综述 张洪义² 审校

¹安徽医科大学空军临床学院, 安徽合肥 230023; ²空军总医院 肝胆外科, 北京 100142

摘要: C-jun 是一种即早基因, 其表达受到 c-jun 的 N-末端激酶 (JNK) 的调控。C-jun 和 JNK 信号通路作为创伤、应激、细胞增殖与凋亡相关的调节因子, 参与调节多种肝脏应激与损伤的过程。本文对近年来 c-jun 和 JNK 信号通路在肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 导致的肝损伤、内质网应激、缺血再灌注损伤、药物性肝损伤、航空生理环境下肝脏应激损伤中的作用机制及其药物干预方面的研究进展作一综述。

关键词: c-jun 的 N-末端激酶; c-jun; 转录因子激活蛋白-1; 航空生理

中图分类号: R 333.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2013)11-1201-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2013.11.033

网络出版时间: 2013-07-04 15:13

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20130704.1513.001.html

C-jun 属于即早基因 (immediate early genes, IEGs) 成员之一。而即早基因是原癌基因家族成员, 常在细胞生长、增殖、凋亡、创伤、应激等反应的早期出现表达变化。即早基因通常在细胞内作为第三信使, 受信号通路调节后作用于核内调节靶基因的转录。即早基因家族包括 jun、fos、myc 和 egr 4 大类, 其表达的蛋白在级联信号调节下快速产生, 且存在时间短暂。C-jun 基因在多种肿瘤的发生与发展、表皮的生长与发育、细胞的生存与凋亡、组织细胞损伤、应激等过程中被广泛研究。C-jun 的 N-末端激酶是丝裂原激活蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPKs) 家族成员, 在多种组织器官 (包括肝脏) 的损伤、应激、细胞生存与凋亡等方面起着重要调节作用。本文就 c-jun 基因的结构与特点, JNK 通路的主要调节作用, 以及其在肝脏应激损伤中的研究进展作一综述。

1 C-jun/JNK 信号通路概述

Jun 基因最早被发现是在禽类肉瘤病毒 17 (ASV17) 复制缺陷的转化细胞中, 被命名为 v-jun 基因^[1]。随后在人和鼠类组织中分离出来 v-jun 类似物, 命名为原癌基因 c-jun。此后研究发现 jun 基因为一类基因家族, 包括 c-jun、junB 和 junD 3 种基因。早期研究主要关注 c-jun 的结构和功能, 发现 39 kU 的 c-jun 蛋白组成包含一个 C-末端碱性区亮氨酸拉链 DNA 结合结构域和一个 N-末端的转录激活结构域。c-jun 是以亮氨酸拉链为结构基础的核内转录因子家族成员之一, 可以形成同源二聚体, 或与 AP-1 家族其他成员

通过亮氨酸拉链形成异源二聚体结构, 在不同组织细胞中转运到细胞核内, 结合核内特异性基因 DNA 序列的启动子上, 调节靶基因转录水平。AP-1 家族 (activator protein-1, AP-1) 是一类以亮氨酸拉链为结构基础的二聚体结构蛋白, 在神经细胞、皮肤细胞的生长、发育、细胞凋亡、基因转录等方面起着重要的作用^[2]。其组成成员有 jun 亚类 (c-jun、junB 和 junD)、fos 亚类 (c-fos、fosB、Fra1 和 Fra2)、激活转录因子 (activating transcription factor, ATF) 和肌腱膜纤维肉瘤 (musculoaponeurotic fibrosarcoma, MAF) 家族。C-jun, 作为 AP-1 家族中被广泛研究的蛋白, 涉及到组织细胞的多种活动, 例如细胞增殖、细胞凋亡、生长、肿瘤形成、创伤、应激 (疼痛、心理、渗透压变化、电离或紫外线辐射等) 等。

C-jun 的 N-末端激酶 (JNK) 是丝裂原激活蛋白激酶家族成员之一。JNK 受到三层级联反应激活, 而丝裂原激活蛋白激酶级联又是组织细胞中重要的信号传导系统。JNK 在哺乳动物有 3 个异构体: JNK1、JNK2 和 JNK3, 分别编码 MAPK8、MAPK9 和 MAPK10^[3]。JNK1 和 JNK2 几乎在所有细胞 (包括肝实质细胞) 中。而 JNK3 主要表达在脑、心脏和睾丸细胞中。JNK 蛋白已知至少 10 选择性剪接体存在, 大小范围从 46 ~ 55 kU, 增加了 JNK 蛋白质的多样性, 但其各自功能上的意义目前还不清楚^[4]。JNK 的酶活性受多种刺激诱导, 如肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、转化生长因子-β、病原体、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、病理和环境应激、毒素、药物、内质网应激和代谢综合征。JNK 在其 C-末端有一个共同的底物作用点和在其 N-末端有谷氨酸-天冬氨酸域, 与 MAP2Ks、磷酸酶类 (例如: JNK 双特异性磷酸酶) 和底物相互作用^[5]。已知的 JNK 的底物有许多种, 包括 jun 家族 (包括 c-jun)、AP-1、P53、c-myc、Bcl-2、Mcl-1、Sab、ATF-2、胰岛素受体底物-1 (IRS-1)、JNK 相互作用蛋白 1 (JIP1)。

2 JNK/c-jun 在肝脏应激损伤中的研究进展

2.1 JNK/c-jun 在 TNF-α 介导的肝损伤中的研究进展

收稿日期: 2013-05-20

基金项目: 全军医学科技“十二五”科研基金项目 (CKJ12J022)

Supported of the Military Special-purpose Program of "12th Five-Year" (CKJ12J022)

作者简介: 李文兵, 男, 在读硕士。研究方向: 加速度对肝脏应激损伤的分子机制与防护。Email: 403305302@qq.com

通信作者: 张洪义, 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 主任。Email: zhhyiyi1487@163.com

TNF介导的肝细胞损伤最近受到广泛研究。研究表明^[6] NF- κ B的激活对TNF介导肝损伤具有保护作用,而在TNF诱导的肝细胞损伤中JNK的活化对TNF诱导的生物效应不是一个简单的开关作用。短暂和适度的JNK激活与细胞生存相关,而持续与强烈的JNK激活在TNF诱导的细胞凋亡中起着重要作用。然而其中,NF- κ B调控TNF诱导的JNK激活水平。Liu等^[7]研究发现,在TNF诱导的肝细胞损伤中腺病毒介导的NF- κ B的失活导致JNK持续激活和激活蛋白-1(AP-1)的转录活性增加,而抑制JNK和c-jun/AP-1能够阻断TNF和NF- κ B失活导致的细胞死亡,且抑制c-jun的功能能够阻止线粒体细胞色素C释放和活化胱冬肽酶-3和胱冬肽酶-7。这些结果表明在NF- κ B缺乏的情况下JNK的持续活化通过启动c-jun依赖性的线粒体死亡途径诱导细胞凋亡。由此得知,NF- κ B是通过下调JNK和c-jun/AP-1阻断TNF死亡途径的。为了研究JNK1和JNK2各自在肝损伤和细胞凋亡的作用,Kodama等^[8]研究发现体外培养的JNK2-/-肝细胞显示出Mcl-1的表达增加,并且比野生型或JNK1-/-肝细胞更耐TNF- α 诱导的细胞凋亡。同时也发现Mcl-1的表达增加与JNK2-/-肝细胞中JNK2的缺失和JNK1超表达有关,JNK1活化导致Mcl-1在肝细胞中的磷酸化,进而增加Mcl-1蛋白的半衰期。这些结果表明JNK2-/-肝细胞具有抗TNF- α 诱导的细胞凋亡作用。其机制可能是JNK1通过磷酸化介导Mcl-1蛋白的稳定作用,导致在JNK2-/-的肝细胞中减弱肝损伤和细胞凋亡。在减弱TNF介导的肝细胞损伤方面的研究中,Win等^[9]实验研究发现作为JNK在线粒体膜上结合位点,Sab沉默能够抑制JNK持续激活和JNK在线粒体膜上靶向作用,对TNF诱导的肝损伤起到保护作用。因此,这一发现可能为减弱TNF介导的肝细胞损伤提供阻断靶点,对Sab的干预值得进一步的研究。Dou等^[10]研究发现过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)激动剂苯扎贝特通过阻止细胞内4-羟基壬烯醛(4-Hydroxynonenal, 4-HNE)积累,对4-HNE/TNF诱导的在肝细胞损伤赋予一定的保护作用。Kim等^[11]发现阿魏酸能够通过抑制TNF- α 表达、JNK的激活和c-jun蛋白水平,保护四氯化碳诱导的肝损伤。然而,苯扎贝特和阿魏酸的保护作用机制及其治疗学上的价值有待进一步研究。Borkham-Kamphorst等^[12]研究发现载脂蛋白-2(LCN2)的上调对TNF导致的急性肝损伤具有显著的肝保护作用,可能成为肝功能损害可靠的指标。

2.2 JNK/c-jun在缺血再灌注肝损伤中的研究进展 缺血再灌注(ischemia-reperfusion, IR)是一个严重的肝损伤临床并发症,与肝移植,肝脏肿瘤的手术切除,循环系统休克等密切相关。肝脏缺血再灌注损伤由一个复杂的网络机制调节,包括细胞的免疫系统、细胞因子和微循环血量减少。细胞内的离子失衡、线粒体功能紊乱、活性氧类在缺血再灌注损伤中扮演重要作用,这些复杂的调节网络系统进一步被阐述由多种细胞内信号通路调节^[13]。大量研究^[14]发现,JNK通路和c-jun/AP-1参与肝IR损伤。Devey等^[15]发现野生型和JNK2-/-小鼠能减弱肝脏的缺血再灌注损伤,

并且血红素氧化酶-1(HO-1)出现过度表达。HO-1缺失能够解除JNK2-/-小鼠对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用,并且加剧野生型和JNK2-/-小鼠的缺血再灌注损伤。这一结果表明JNK2-/-的肝细胞具有对抗IR损伤的作用,其机制可能与HO-1的表达有关。同时,细胞培养^[15]也证实了在JNK2-/-巨噬细胞中TNF- α 表达减少,减弱TNF导致的肝细胞损伤,从而减弱了TNF诱导的JNK2依赖性的胱冬肽酶-8的激活和减少线粒体损害与凋亡。进一步在药物干预的研究中, Lee等^[16]研究发现JNK抑制剂SP600125不仅没有保护肝脏免受缺血再灌注损伤,反而加重肝脏IR损伤。但是,国内仇爱刚等^[17]进行类似研究发现SP600125能够保护肝脏IR损伤,其作用仍存在着争议。

2.3 JNK/c-jun在药物引起的肝损伤中的研究进展 肝脏是临床药物的代谢和清除部位,而药物使用中导致的急性或慢性肝损伤一直受到关注,尤其是药物本身伴有肝损伤,如对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)、丙戊酸、异烟肼等。药物引起的肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)被归因于药物代谢过程中形成的活性代谢物引起的氧化应激和线粒体功能紊乱^[18]。大量研究显示,信号转导通路的激活/抑制在DILI引起的氧化应激过程中发挥了关键作用^[19]。对乙酰氨基酚引起的DILI模型是一个被广泛研究的药物性肝损伤模型。其中JNK通路与c-jun/AP-1在APAP导致的肝损伤中起着十分重要的调节作用。Gunawan等^[20]通过小鼠和体外细胞培养的研究发现在APAP导致的肝损伤中JNK被持续激活,并且发现JNK抑制剂SP600125在体外和体内对APAP肝毒性有显著的保护作用。Gunawan等^[20]进一步发现JNK2基因敲除小鼠和JNK2去除小鼠对APAP引起的肝损伤表现出部分的保护作用,并且JNK的一个潜在靶点是Bax,而Bax向线粒体的迁移同样也能被JNK抑制剂SP600125阻断,减弱对乙酰氨基酚引起的肝损伤。因此,这一试剂可能被发展为治疗对乙酰氨基酚引起的肝伤害的患者。Wancket等^[21]研究发现在APAP引起的肝损伤模型中,相比丝裂原激活蛋白激酶磷酸酶-1(Mkp-1)/+/+小鼠肝细胞中,在Mkp-1-/-小鼠肝细胞中JNK激活更加显著。同时,Mkp-1-/-小鼠表现出更低的生存率。这些结果表明Mkp-1能够通过负反馈调节JNK减弱APAP对肝脏的损伤。这一负反馈调节可能成为进一步研究减弱药物性肝损伤的重要途径。一些诱导体内产生Mkp-1的物质如胰高血糖素、S-腺苷甲硫氨酸、地塞米松等未来可能会被进一步研究其在治疗学上的价值。Patterson等^[22]研究发现过氧化物酶体增殖物激活受体 α 激活能够诱导下游靶基因线粒体解偶联蛋白2表达,进而降低APAP诱导的c-jun和c-fos表达,降低p-JNK,降低线粒体过氧化氢含量,提高肝线粒体谷胱甘肽含量,最终减弱对乙酰氨基酚引起的肝毒性。线粒体解偶联蛋白2在正常生理条件下诱导产生可能是减弱JNK依赖性的线粒体损伤一个重要机制。Win等^[9]研究发现,Sab沉默抑制JNK持续激活和JNK在线粒体膜上定位,对APAP诱导的肝损伤起到保护作用。这一结果表明,线粒体膜上的Sab可能作为一个平台,为MAPK酶类提供结合位点,

是持续活化的JNK导致肝损伤所必需的,也对下一步研究对APAP诱导的肝脏损伤干预提供可能的研究靶点。

2.4 JNK/c-jun在肝细胞内质网应激中的研究进展 内质网是蛋白质与脂质合成、生物膜合成、细胞解毒和细胞钙储存的主要场所,尤其是蛋白质折叠、成熟和运输。蛋白质的折叠、成熟是非常迅速的,特别是在肝、胰等组织细胞中。当未完成折叠或错误折叠的蛋白质积聚在内质网中,内质网变成应激状态和保护未折叠蛋白应答被激活^[23]。多种损伤会导致内质网应激。迄今为止发现有3种内质网膜传感器涉及激活未折叠蛋白反应:ATF6、肌醇需求酶-1 α (IRE-1 α)和PERK(PKR-like ER localized kinase)。这些传感器激活信号转导通路,参与内质网应激。在这些ER传感器中,IRE-1 α 和PERK相关的PKR与eIF2有助于激活JNK和IKK-NF- κ B。IRE-1 α 与TRAF2(TNF receptor-associated factor-2)作用于凋亡信号调节激酶1后激活JNK,JNK进一步激活c-jun的磷酸化,这正与内质网应激诱导的细胞损伤与凋亡有关。Fuest等^[24]在c-jun-/-小鼠中以胡萝卜素内酯或衣霉素诱导产生的内质网应激,发现在c-jun-/-肝细胞中细胞自噬作用受损,导致内质网应激加剧,继而细胞损伤与凋亡发生。这些结果表明c-jun能够防止肝细胞内质网应激反应过度激活,进而减弱肝细胞损伤与凋亡。证实了c-jun与内质网应激反应和大分子自发吞噬反应有关。鉴于c-jun的保护作用,在内质网应激治疗上可能应考虑JNK/c-jun调节轴作为目标。Mohammad等^[25]研究发现丙烯醛能够导致肝脏细胞迅速出现谷胱甘肽耗竭、内质网中eIF2 α 、ATF-3和ATF-4的激活,进而激活JNK通路,出现内质网应激反应和线粒体功能紊乱。同时,发现JNK抑制剂能够减弱丙烯醛诱导的细胞死亡和内质网应激反应。

2.5 JNK/c-jun在航空生理环境下肝脏应激损伤中的研究进展 航空生理是指在航空环境因素,如缺氧、低气压、加速度等条件下,对正常生理的影响。最早人们发现,加速度、微重力及低压低氧条件下患者会出现突然的意识丧失,减压病、颈椎病、胆系疾病发病率增加。近年航空生理条件下肝脏应激损伤的研究增多。周金莲等^[26]研究发现大鼠在模拟失重环境下观察到门静脉内毒素含量的增加,电镜下模拟失重组肝细胞染色质出现浓缩,线粒体损伤,空泡样变,凋亡小体出现。牛忠英等^[27]研究用猕猴暴露于高+Gx条件下,发现肝细胞c-fos表达增加,c-fos可以与c-jun形成异源二聚体AP-1,调节核内靶基因的表达,提示高加速度调节下的肝细胞损伤可能与JNK-c-jun/AP-1轴调节相关,然而其机制尚待进一步研究。崔彦等^[28]发现模拟失重条件下NF- κ B表达增加,可能与失重造成的肝脏应激有关。在肝细胞中NF- κ B能迅速激活JNK,JNK持续激活导致肝细胞损伤或凋亡^[7]。然而,肝脏在航空生理环境下出现损伤的分子机制及其预防与干预的研究仍较少。

3 结语

JNK和c-jun是重要的信号分子,在多种肝脏应激与损伤中起着重要的调节作用。JNK的短暂升高能够导致肝脏

细胞出现损伤,而JNK的持续激活可以导致肝脏细胞凋亡增加。JNK2基因敲除对TNF介导的肝细胞损伤、IR肝损伤的保护作用;Sab沉默使JNK不能结合到线粒体膜上,阻断JNK诱导的线粒体相关的肝细胞损伤;JNK抑制剂对TNF介导的肝细胞损伤、内质网应激、药物性肝损伤的保护作用;c-jun基因敲出小鼠出现肝细胞内质网应激加剧,细胞凋亡增加。上述的研究进展提示研究肝脏应激损伤的相关机制,对其应激损伤的预防和治疗途径的选择具有一定的意义,对其中心环节的干预也将可能是我们在该领域的主要研究思路之一。

参考文献

- 1 Maki Y, Bos TJ, Davis C, et al. Avian sarcoma virus 17 carries the jun oncogene [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987, 84 (9): 2848-2852.
- 2 Vesely PW, Staber PB, Hoefler G, et al. Translational regulation mechanisms of AP-1 proteins [J]. Mutat Res, 2009, 682(1): 7-12.
- 3 Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(8): 537-549.
- 4 Gupta S, Barrett T, Whitmarsh AJ, et al. Selective interaction of JNK protein kinase isoforms with transcription factors [J]. EMBO J, 1996, 15(11): 2760-2770.
- 5 Haeusgen W, Herdegen T, Waetzig V. The bottleneck of JNK signaling: molecular and functional characteristics of MKK4 and MKK7 [J]. Eur J Cell Biol, 2011, 90(6-7): 536-544.
- 6 Javelaud D, Besançon F. NF- κ B activation results in rapid inactivation of JNK in TNF alpha-treated Ewing sarcoma cells: a mechanism for the anti-apoptotic effect of NF- κ B [J]. Oncogene, 2001, 20(32): 4365-4372.
- 7 Liu H, Lo CR, Czaja MJ. NF- κ B inhibition sensitizes hepatocytes to TNF-induced apoptosis through a sustained activation of JNK and c-Jun [J]. Hepatology, 2002, 35(4): 772-778.
- 8 Kodama Y, Taura K, Miura K, et al. Antiapoptotic effect of c-Jun N-terminal Kinase-1 through Mcl-1 stabilization in TNF-induced hepatocyte apoptosis [J]. Gastroenterology, 2009, 136(4): 1423-1434.
- 9 Win S, Than TA, Han D, et al. c-Jun n-terminal kinase (JNK) - dependent acute liver injury from acetaminophen or tumor necrosis factor (TNF) requires mitochondrial Sab protein expression in mice [J]. J Biol Chem, 2011, 286(40): 35071-35078.
- 10 Dou X, Li S, Wang Z, et al. Inhibition of NF- κ B activation by 4-hydroxynonenal contributes to liver injury in a mouse model of alcoholic liver disease [J]. Am J Pathol, 2012, 181(5): 1702-1710.
- 11 Kim HY, Park J, Lee KH, et al. Ferulic acid protects against Carbon tetrachloride-induced liver injury in mice [J]. Toxicology, 2011, 282(3): 104-111.
- 12 Borkham-Kamphorst E, Van de Leur E, Zimmermann HW, et al. Protective effects of lipocalin-2 (LCN2) in acute liver injury suggest a novel function in liver homeostasis [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(5): 660-673.
- 13 Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, et al. Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology [J]. HPB Surg, 2012: 176723.
- 14 Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, et al. Liver ischemia/reperfusion injury: processes in inflammatory networks—a review [J]. Liver Transpl, 2010, 16(9): 1016-1032.
- 15 Devey L, Mohr E, Bellamy C, et al. c-Jun terminal kinase-2 gene deleted mice overexpress hemeoxygenase-1 and are protected from hepatic ischemia reperfusion injury [J]. Transplantation, 2009, 88

- (3): 308–316.
- 16 Lee KH, Kim SE, Lee YS. SP600125, a selective JNK inhibitor, aggravates hepatic ischemia–reperfusion injury [J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38 (4): 408–416.
- 17 仇爱刚, 徐三荣, 李杰, 等. SP600125 对大鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14 (53): 9977–9981.
- 18 Han D, Dara L, Win S, et al. Regulation of drug–induced liver injury by signal transduction pathways : critical role of mitochondria [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34 (4): 243–253.
- 19 Han D, Shinohara M, Ybanez MD, et al. Signal transduction pathways involved in drug–induced liver injury [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2010, (196): 267–310.
- 20 Gunawan BK, Liu ZX, Han D, et al. c–Jun n–terminal kinase plays a major role in murine acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Gastroenterology*, 2006, 131 (1): 165–178.
- 21 Wancket LM, Meng X, Rogers LK, et al. Mitogen–activated protein kinase phosphatase (Mkp) –1 protects mice against acetaminophen–induced hepatic injury [J]. *Toxicol Pathol*, 2012, 40 (8): 1095–1105.
- 22 Patterson AD, Shah YM, Matsubara T, et al. Peroxisome proliferator–activated receptor alpha induction of uncoupling protein 2 protects against acetaminophen–induced liver toxicity [J]. *Hepatology*, 2012, 56 (1): 281–290.
- 23 Wu J, Kaufman RJ. From acute ER stress to physiological roles of the Unfolded Protein Response [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13 (3): 374–384.
- 24 Fuest M, Willim K, MacNelly S, et al. The transcription factor c–Jun protects against sustained hepatic endoplasmic reticulum stress thereby promoting hepatocyte survival [J]. *Hepatology*, 2012, 55(2): 408–418.
- 25 Mohammad MK, Avila D, Zhang J, et al. Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 265 (1): 73–82.
- 26 周金莲, 李成林, 易勇, 等. 模拟失重导致门静脉内毒素血症和肝脏超微结构改变 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2011, 20 (12): 1140–1143.
- 27 牛忠英, 张建中, 施生根, 等. 高 +Gx 对猴肝细胞 c–fos 表达的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2006, 14 (28): 2793–2795.
- 28 崔彦, 董家鸿, 张铭, 等. 模拟失重大鼠肝组织中 NF– κ B 的表达及意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16 (31): 3480–3484.