

## 参 考 文 献

- 1 Bedell C. Pegfilgrastim for chemotherapy-induced neutropenia [J]. Clin J Oncol Nurs, 2003, 7(1): 55-56.
- 2 Holmes FA, O'Shaughnessy JA, Vukelja S, et al. Blinded, randomized, multicenter study to evaluate single administration pegfilgrastim once per cycle versus daily filgrastim as an adjunct to chemotherapy in patients with high-risk stage II or stage III/IV breast cancer [J]. J Clin Oncol, 2002, 20(3): 727-731.
- 3 Hebert PC, Fergusson D, Blajchman MA, et al. Clinical outcomes following institution of the Canadian universal leukoreduction program for red blood cell transfusions [J]. JAMA, 2003, 289(15): 1941-1949.
- 4 Blajchman MA. Immunomodulation and blood transfusion [J]. Am J Ther, 2002, 9(5):389-395.
- 5 Maekawa K. Overview of medical care for highly exposed victims in the Tokaimura accident [A]. Ricks RC, Berger ME, O'Hara FM, eds. The Medical Basis for Radiation Accident Preparedness: The Clinical Care of Victims [C]. New York: Parthenon, 2002. 313-318.
- 6 Flidner TM, Graessle D, Reimers K, et al. Stem cell transplantation in radiation accidents[A]. Medical Aspects of Radiation Emergency: The Criticality Accident in Tokaimura. Chiba [C]. Japan: National Institute of Radiological Sciences, 2000. 228-235.
- 7 Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer [J]. Clin Infect Dis, 2002, 34(6):730-751.
- 8 Hughes WT. Use of antimicrobial agents for treatment of infection in the neutropenic immunocompromised patient [A]. Ricks RC, Berger ME, O'Hara FM, et al. The Medical Basis for Radiation-Accident Preparedness. The Clinical Care of Victims [C]. Washington DC: Parthenon, 2002. 117-129.
- 9 Brook I, Elliott TB, Ledney GD, et al. Management of postirradiation sepsis [J]. Mil Med, 2002, 167(2 suppl): 105-106.
- 10 National Council on Radiation Protection and Measurements. Management of Terrorist Events Involving Radioactive Material. NCRP Report No. 138 [C]. Bethesda, MD, 2001. 125-134.
- 11 U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance: Potassium iodide as a thyroid blocking agent in radiation emergencies. December 2001. www.fda.gov/cder/guidance/4825fnl.pdf.

(收稿日期: 2005-04-07)

文章编号: 1001-098X(2005)06-0278-04

## 环加氧酶与放射性胃肠道损伤

王涛 粟永萍

**摘要** 前列腺素是一类重要的类花生酸类化合物,它们具有多种生物功能。环加氧酶(COX)是前列腺素合成的限速酶,存在两个亚型:COX-1和COX-2。研究表明,前列腺素和COX对于胃肠道有积极的保护作用,本文就其在放射性胃肠道损伤中作用的研究进展兼其生物化学和生理作一综述。

**关键词** 前列腺素;环加氧酶;放射性胃肠道损伤

**中图分类号** R818.74

**文献标识码** A

## Cyclooxygenase and radiation-induced gastrointestinal injury

WANG Tao, SU Yong-ping

(State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract** Prostaglandins is a family of eicosanoids, which have many biological functions. Cyclooxygenase is the key enzyme of the prostaglandins' biosynthesis and it has two isoforms: COX-1 and COX-2. Many researchs indicate that prostaglandins and cyclooxygenase play positive protective role in gastrointestinal tract. In this review, the role of prostaglandins and cyclooxygenase in radiation-induced gastrointestinal injury, as well as their biochemistry and physiology is summarized.

**Key Words** prostaglandins; cyclooxygenase; radiation-induced gastrointestinal injury

前列腺素是机体内一组重要的二十碳酸类化合物,它们在生殖、发育、凝血、损伤修复和肿

瘤发生发展等众多生理、病理事件中都扮演了重要的角色<sup>[1]</sup>。前列腺素的合成是一个复杂的多步酶促反应,环加氧酶(cyclooxygenase, COX),又名前列腺素内过氧化物 H 合成酶(prostaglandin endo-

作者单位: 400038 重庆,第三军医大学预防医学院全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室

peroxide H synthase, PGHS), 是其合成的限速酶。COX 有两个亚型: COX-1 和 COX-2。肠道是辐射敏感器官, 近年来的研究表明, 前列腺素和对于肠道的放射性损伤与修复有重要意义。

## 1 概述

### 1.1 前列腺素的生物化学

前列腺素是细胞内花生四烯酸(arachidonic acid)的代谢产物之一, 其生物合成有着复杂的调控机制。正常的情况下, 细胞内存在花生四烯酸产生和利用的动态平衡, 实现对花生四烯酸等不饱和脂肪酸的循环利用, 以维持基础的磷脂更新代谢, 重塑膜。当炎症介质、生长因子和细胞因子等存在时, 随着相关受体的激活, 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平迅速升高超过某一阈值后, 钙离子依赖性的磷脂酶  $\text{A}_2$  ( $\text{Ca}^{2+}$ -dependent phospholipase  $\text{A}_2$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ -PLA $_2$ ) 被激活, 成为调控花生四烯酸从胞膜磷脂释放的优势 PLA, 打破了上述动态平衡, 此时花生四烯酸的释放速率大于胞膜重新摄取的速率。随着花生四烯酸的积累, 一方面其可在 5-脂加氧酶作用下生成白三烯(leukotriene)类物质; 另一方面, 在 COX-1 和(或)COX-2 的参与下可以花生四烯酸为底物生成各种形式的前列腺素。在这个过程中, COX 的活性先将花生四烯酸转变成不稳定的前体物质前列腺素  $\text{G}_2$  (prostaglandin  $\text{G}_2$ , PGG $_2$ ), 其后经过氧化物酶活性将其转变为前列腺素的共同中间体前列腺素 ( $\text{prostaglandin H}_2$ , PGH $_2$ ); 随后依各种细胞下游异构酶类的不同, 生成不同的前列腺素。例如: 在血小板, 是血栓素合成酶, 生成血栓素, 收缩血管, 促进凝血; 而在与之对应的内皮细胞存在前列环素合酶, 生成前列环素, 其作用是舒张血管、抗凝血; 在胃肠道中, 比较重要的前列腺素是前列腺素  $\text{E}_2$  (prostaglandin  $\text{E}_2$ , PGE $_2$ ) 和前列环素。同时, 随着受体-配体作用时间和强度的加强, 可诱导的分泌型磷脂酶  $\text{A}_2$  (secreted PLA $_2$ , sPLA $_2$ ) 参与进来, 经循环放大效应, 产生更多的前列腺素, 通过旁分泌方式扩散到周围其他细胞。

生物合成的各种前列腺素通过不同的受体发挥其生物功能。研究表明有两类受体<sup>[1]</sup>: 一类是锚定于细胞膜的 G-蛋白耦联类受体, 有多种亚型, 其信号转导的机制尚不清楚, 现有的研究表明可能与

cAMP、cGMP 等有关; 另一类是定位于核周被膜的过氧化物酶体增生物激活受体(peroxisome proliferator activated receptors, PPARs)类, 包括 PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , PPAR- $\delta$  3 种, 它们激活后可作为转录因子发挥作用, 这提示细胞自身产生的前列腺素可直接作用到细胞核, 产生生物效应。

### 1.2 COX-1 和 COX-2 的结构及表达调控

如前所述, COX-1 和 COX-2 具有相同的底物, 催化了相同的反应, 产物完全一致, 这表明二者有共同结构基础。研究表明, 两种酶的一级线性结构和三维空间结构十分相似, 二者的催化位点也很接近, 只差两个氨基酸<sup>[2]</sup>。二者结构上的主要差别在于它们的两端的多肽<sup>[3]</sup>, COX-1 氨基末端上含有一个 17 个氨基酸的序列, COX-2 不具有该序列; 而 COX-2 的羧基末端含有一个 18 个氨基酸的序列, COX-1 则没有。这些差别序列, 是制备特异性抗体区分二者的重要位点。尽管二者的结构非常接近, 但有学者认为, 它们早在鸟类和哺乳动物之前就有明显分歧的两种基因<sup>[4]</sup>。

虽然单纯化学意义上的 COX-1 和 COX-2 的功能几乎相同, 但是从整体生物效应的层面来看二者差别很大, 这种差别取决于它们在特定病理生理情况下, 在不同组织的时间和空间的表达模式的不同, 而之所以会产生这种不同, 主要原因是它们有着不同的表达调控模式。COX-1 是一种持家蛋白, 它在多数组织均有表达, 产物相对稳定, 表明其产生的前列腺素对于保证机体内稳态有重要意义; COX-2 可在特定情况下诱导表达, 表明其具有特殊的功能意义。研究表明, 它们的表达调控差别可以归结为以下几点:

(1) COX-1 和 COX-2 的调控序列差别很大<sup>[5]</sup>。COX-2 的启动子和增强子区域有许多可被激素、生长因子、佛波酯、细胞因子、炎症介质和 cAMP 等调控的反应元件; 而 COX-1 的调控序列则没有这些序列。

(2) COX-2 在 mRNA 的剪切、稳定性和翻译效率上与 COX-1 不同, 许多生理性介质可在 mRNA 水平对其调控, 如糖皮质激素可通过翻译水平下调 COX-2, 抑制前列腺素生成, 实现炎症抑制。

(3) COX-2 可能参与了信号转导<sup>[6]</sup>, 调控了细胞周期、凋亡等重要生物学事件。

## 2 COX在放射性胃肠道损伤中的作用

### 2.1 前列腺素在胃肠道中的作用

正常情况下, COX-1在胃肠道呈组成性表达, 持续产生前列腺素以维护胃肠黏膜的完整性, 调节黏膜内稳态, 损伤后呈较为缓慢的上升; 而 COX-2则在正常情况下不表达或表达量很低, 在炎症、感染等因素作用下诱导, 受立即早期基因调控可迅速表达。

生理条件下, 前列腺素在胃肠道具有重要的功能<sup>[6]</sup>。前列腺素可通过受体直接作用和(或)调节胃肠道神经节相关神经递质促进胃肠分泌功能, 这种功能是通过促进氯化物和碳酸氢盐的分泌、抑制钠和氯的吸收实现的, 这样当细菌入侵黏膜时, 局部炎症诱导 COX-2 迅速表达, 产生大量前列腺素, 分泌液体增多可冲刷稀释局部的细菌和毒素。前列腺素对胃肠黏膜有细胞保护作用, 表现在损伤前给予外源性前列腺素可减轻或避免损伤, 这可能与调节黏膜血流量、促进黏膜增殖修复等有关。另外, 前列腺素还有维持血管内皮完整性、调节胃肠运动等重要生理功能。

前列腺素的受体类型很多, 表明其功能意义的复杂性, 已有的研究主要集中在 PGE<sub>2</sub> 的受体。Angela N 等<sup>[7]</sup>用原位杂交方法对 PGE<sub>2</sub> 的 4 种受体 EP1 受体-EP4 受体在大鼠胃肠道的分布进行了系统的研究, 结果表明胃的黏液细胞、小肠和大肠的杯状细胞具有所有 4 种受体; 胃的壁细胞表达 EP1、EP3 和 EP4 等 3 种受体, 而主细胞 EP1、EP3 受体呈弱阳性; EP1、EP3 受体在小肠和胃的肌层和神经节胶质细胞呈阳性。

### 2.2 COX和前列腺素在放射性胃肠道损伤中的意义

胃肠上皮是构筑胃肠道黏膜屏障的主要部分, 其特点是增生活跃、具有高度有序的更新系统, 对辐射高度敏感, 因此它们是核事故和肿瘤放疗的重要危相器官, 容易引发放射性胃肠综合征, 目前尚无有效的救治方法。

早期的研究表明, 照射前给予前列腺素处理能明显增多小肠隐窝干细胞的存活数; 体外实验表明, 前列腺素类似物可促进犬的小肠细胞的增殖能力。Steven MC 等<sup>[8]</sup>系统地研究了照射后小肠 PGE<sub>2</sub> 的变化情况, 以及 COX-1 和 COX-2 在其中的作

用, 结果概括如下: 免疫组化显示, 正常情况下 COX-1 在肠上皮隐窝表达,  $\gamma$  射线照射后, 在增生隐窝呈现强阳性; PGE<sub>2</sub> 在第 3 日较照射前升高了 4 倍; COX-1 的 mRNA 和蛋白水平明显升高, COX-2 则变化不明显; COX-1 和 COX-2 共同的非选择性抑制剂吲哚美辛在照后 24~48h 给药可明显降低 PGE<sub>2</sub> 水平, 小肠隐窝细胞存活数显著降低, 而吲哚美辛这种作用当同时给予前列腺素后可被逆转; 照后 COX-2 特异性抑制剂处理对 PGE<sub>2</sub> 水平和隐窝细胞存活无显著影响。同时作者指出, 照射前给予大剂量外源超生理浓度的前列腺素有明显的保护作用; 然而, 照射前 1h 给予吲哚美辛并未影响存活隐窝数, 但照射后 24~48h 减低 PGE<sub>2</sub> 则能影响到存活隐窝数。表明照射后小肠至少存在两个 PGE<sub>2</sub> 敏感性明显不同的时间段。

Courtney WH 等<sup>[9]</sup>则通过基因剔除小鼠直接证明在放射性胃肠综合征中是 COX-1 而非 COX-2 产生的 PGE<sub>2</sub>, 对小肠隐窝干细胞发挥了保护作用。他们的研究结果表明:  $\gamma$  射线照射后, COX-1 基因剔除(COX-1<sup>-</sup>)小鼠与野生型小鼠比较, 隐窝上皮细胞凋亡明显升高, 克隆原性干细胞存活数显著降低, 致伤前后 PGE<sub>2</sub> 合成量均显著下降; 前述 3 项指标, COX-2 基因剔除(COX-2<sup>-</sup>)小鼠则与野生型小鼠并无显著差别; 使用 PGE<sub>2</sub> 特异性的中和性抗体后, 照射后小肠隐窝克隆原性干细胞存活数显著降低。表明 COX-1 在放射性胃肠综合征中发挥了积极作用。

其他学者进一步从 PGE<sub>2</sub> 的受体角度证明了其作用。他们研究了照射前后野生型小鼠小肠 PGE<sub>2</sub> 的 EP2 受体变化, 并对比野生型小鼠和 EP2 受体基因剔除 (EP2<sup>-</sup>) 小鼠照射后小肠隐窝细胞凋亡和隐窝存活的情况, 结果表明: 野生型小鼠 EP2 照射后 mRNA 升高 5 倍以上; 与野生型小鼠比较, EP2<sup>-</sup> 小鼠隐窝存活数减少了 50%, 而隐窝凋亡数要高 1.6 倍。提示 PGE<sub>2</sub> 对照射后小肠隐窝的保护和抗隐窝细胞凋亡作用是通过 EP2 受体实现的<sup>[10]</sup>。

诸多研究表明, COX-1 作为小肠辐射反应的重要因素具有保护肠上皮的重要作用, 这也提示作为同工酶的 COX-2 具有潜在的类似作用, 关键是其如何有效的激活。Riehl T 等<sup>[11]</sup>研究表明, 辐射保护剂脂多糖是通过预先激活 COX-2 产生较多的

PGE<sub>2</sub> 而实现对大剂量照射(14 Gy)后肠上皮的保护作用, 研究结果显示: 预先给予脂多糖可以使3.5d后的肠黏膜再生隐窝提高2倍, 这种保护效应在COX-2<sup>-/-</sup>小鼠不能被诱导, 同时可被COX-2特异性抑制剂去除; 免疫组化显示, 给予脂多糖组小鼠小肠存在高表达的COX-2, 其主要分布在上皮下成纤维细胞和绒毛上皮细胞, 而不是隐窝区细胞/干细胞。同一研究组Terrence ER等<sup>[21]</sup>的进一步研究表明, 脂多糖小肠的辐射保护作用是由肿瘤坏死因子-1受体介导实现的。新近的研究提示, 脂多糖的这种作用与核因子- $\kappa$ B的激活密切相关<sup>[13]</sup>。

### 3 结语

随着研究的深入, 对前列腺素限速酶COX的作用认识也日益深入, 尤其是一些技术手段的开展和检测水平的发展促进了认识水平的提高。比如传统的观点认为, COX-2在正常胃肠组织不表达<sup>[14]</sup>, 然而近年较多研究提出, COX-2普遍存在低水平的组成性表达, 并认为有一定的生理意义, 选择性抑制COX-1并不能导致胃肠黏膜受损, 只有同时抑制COX-1与COX-2方能出现损伤, 提示低水平COX-2对维持黏膜的完整性有积极意义。还有, 对COX-1<sup>-/-</sup>与COX-2<sup>-/-</sup>的基因剔除小鼠研究表明, COX-1<sup>-/-</sup>小鼠虽然胃肠检测不到前列腺素, 但大体和光镜并未发现胃肠黏膜的病理变化, 与正常小鼠比较, 溃疡发生率无明显差别, 相反显示出对吲哚美辛所致胃肠损伤有一定抵抗作用; COX-2<sup>-/-</sup>也未见自发性溃疡, 但存在严重的肾损伤和较高的自发性腹膜炎。这些结果表明, 胃肠黏膜存在着复杂的保护系统, COX生成的前列腺素只是其中的一个环节, 而且在一定程度上COX-1与COX-2可能有功能上的互补。

放射性胃肠道损伤一直是小肠放射生物学领域的研究热点, 深入研究其发生机制和救治方法, 对于腹部肿瘤局部放疗以及战时核爆炸和平时核事故引起的消化道损伤的理论与实践有着积极意义。已有的研究表明, 在放射性胃肠道损伤中, 前列腺素可促进胃肠上皮的增殖修复、抗凋亡、调节血供, 尤其是对隐窝干细胞有很好的细胞保护作用; 最近的研究表明, 这些作用主要是通过COX-1产生的前列腺素实现的, 而COX-2在脂多糖诱导的

辐射保护中起了关键作用。这些结果有利于全面地认识COX和前列腺素在放射性胃肠综合征的发生发展和转归中的作用。

### 参 考 文 献

- 1 Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, et al. Cyclooxygenase in biology and disease[J]. FASEB J, 1998, 12(12): 1063-1073.
- 2 Fitzpatrick FA, Roy S. Regulated formation of eicosanoids [J]. J Clin Invest, 2001, 107(11): 1347-1351.
- 3 Bakhle YS. COX-2 and cancer: a new approach to an old problem [J]. Br J Pharmacol, 2001, 134(6): 1137-1150.
- 4 Kujubu DA, Reddy ST, Fletcher BS, et al. Expression of the protein product of the prostaglandin synthase-2/TIS10 gene in mitogen-stimulated swiss 3T3 cells[J]. J Biol Chem, 1993, 268(8): 5425-5430.
- 5 Jeong AH, Jong-Il Kim, Pat P, et al. p53-mediated induction of Cox-2 counteracts p53- or genotoxic stress-induced apoptosis[J]. EMBO J, 2002, 21(21): 5635-5644.
- 6 Babak M, Thomas YM. Eicosanoids and the small intestine [J]. Prostaglandins Lipid Mediators, 2000, 61(3-4): 125-143.
- 7 Angela N, Danielle D, Cirino M, et al. Cellular distribution of prostanoide EP receptors mRNA in the rat gastrointestinal tract[J]. Prostaglandins Lipid Mediators, 2000, 62(2): 145-156.
- 8 Steven MC, Suzanne S, Teresa T, et al. Crypt stem cell survival in the mouse intestinal epithelium is regulated by prostaglandins synthesized through cyclooxygenase-1[J]. J Clin Invest, 1997, 99(-6): 1367-1379.
- 9 Courtney WH, William FS, Steven MC. Disruption of cyclooxygenase-1 gene results in an impaired response to radiation injury[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279(5): G858-G865.
- 10 Courtney WH, Mark AS, Shrikant A, et al. Prosurvival and antiapoptotic effects of PGE<sub>2</sub> in radiation injury are mediated by EP2 receptor in intestine[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003, 284(3): G490-G498.
- 11 Riehl T, Cohn S, Tessner S, et al. Lipopolysaccharide is radioprotective in the mouse intestine through a prostaglandin-mediated mechanism[J]. Gastroenterology, 2000, 118(6): 1106-1116.
- 12 Terrence ER, Rodney DN, Robin G, et al. TNFR1 mediates the radioprotective effects of lipopolysaccharide in the mouse intestine [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 286(1): 166-173.
- 13 Egan LJ, Eckmann L, Greten FR, et al. IkappaB-kinasebeta-dependent NF-kappaB activation provides radioprotection to the intestinal epithelium[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(8): 2452-2457.
- 14 Halter F, Tarnawski AS, Schmassmann A, et al. Cyclooxygenase2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives[J]. Gut, 2001, 49: 443-453.