

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00699

肝缺血-再灌注损伤分子标志物的研究进展

夏春燕, 丛文铭*

第二军医大学东方肝胆外科医院病理科, 上海 200438

[摘要] 肝缺血-再灌注损伤(IRI)是肝外科手术尤其是肝移植面临的一大问题,由于肝 IRI 的机制尚未完全阐明,目前临床上在肝 IRI 的诊断、预防及治疗等方面均无很有效的措施。本文综述了近年来 IRI 损伤研究中发现的几个较新的分子标志物的研究进展,包括转录因子信号转导和转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)、低氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)、过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator 2 activated receptor, PPAR)、胞质内信号转导因子促有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、Toll 样膜受体(toll-like receptor 4, TLR4)、凝血酶受体(protease-activated receptors, PARs),及作为效应因子的可诱导一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等,它们与细胞的信号转导系统相关。动物实验研究中发现激活或阻断这些分子对 IRI 有保护作用,其有可能成为临床诊断、预防及治疗 IRI 的靶标。

[关键词] 肝;缺血-再灌注损伤;分子标志物

[中图分类号] R 657.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)06-0699-04

Markers of hepatic ischemia-reperfusion injury: a recent progress

XIA Chun-yan, CONG Wen-ming*

Department of Pathology, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

[ABSTRACT] Hepatic ischemia-reperfusion injury (IRI) is a critical problem of liver surgery, especially when comes to liver transplantation. Presently, there are no effective measures for diagnosis, prevention and therapy of IRI, as the mechanisms of IRI still remain unclear. This review summarizes several new hepatic ischemia-reperfusion markers related to cell signal transduction pathway, including transcription factor STAT, HIF-1 and PPARs, transmission factor MAPK, membrane receptor TLR4 and PARs, and iNOS. Animal studies have indicated that IRI was ameliorated by activating or blockading these markers, which might serve as targets for diagnosis, prevention and therapy of IRI.

[KEY WORDS] liver; ischemia-reperfusion injury; markers

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(6): 699-702]

缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)是一种非抗体依赖性的组织细胞损伤,是肝外科临床各类手术中普遍面临的一大问题,尤其在器官移植中,严重的 IRI 损伤不但能诱导排斥反应的发生,严重者可导致移植肝失功。为此,人们一直在寻找 IRI 损伤的分子标志物,旨在能更准确地诊断 IRI 损伤的发生,有助于对 IRI 损伤的治疗与预防。现就近年来研究发现的分子标志物的研究进展作一综述。

1 信号转导和转录激活子(signal transducer and activator of transcription, STAT)

STAT 是一种能与靶基因调控区特异 DNA 结合的胞质蛋白家族,有可与含磷酸化酪氨酸肽段结合的 SH2 和 SH3 结构域。STAT 磷酸化后聚集成活化的转录激活因子的形式,进入胞核与靶基因结合,促进基因转录。目前已有 7 种

哺乳动物的 STAT 家族成员被克隆,包括 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b、STAT6。现有研究表明,STAT6 和 STAT4 与 IRI 损伤有密切关系。Shen 等^[1]在部分肝叶热缺血大鼠模型中发现,在 STAT4 敲除(knock out)的大鼠中 IRI 损伤明显减轻,而 TNF- α /Th1 型细胞因子的 mRNA 及蛋白表达减少,并伴随 HO-1 的高表达;注射 IL-4、IL-13 的野生型(wild type)大鼠其 STAT6 活性显著增高,同时肝 IRI 损伤减轻,因此认为 STAT4 对 IRI 损伤有促进作用,而 STAT6 可能对 IRI 起着保护作用。在肝 IRI 的发生发展过程中,被激活的 Kupffer 细胞、内皮细胞及中性粒细胞释放大量的细胞因子,如 IL-1、IL-6、IFN- γ 等,也都是 STAT 分子的配体,通过 STAT 来调节下游基因的表达而发挥其生物学功能^[3]。因此,如能对 STAT 分子的表达或功能进行干预,将可能为肝 IRI 提供新的防治措施。如现在动物

[收稿日期] 2007-12-11 **[接受日期]** 2008-02-28

[作者简介] 夏春燕, 博士生. E-mail: xiacyq@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-25070854, E-mail: wmcng@smmu.edu.cn

实验中已知,促进 IL-4 的活性或抑制 IL-12 可分别活化 STAT6 和 STAT4,从而调节 TH1 及 TH2 细胞的功能^[2-4],达到减轻肝 IRI 的目的。

2 低氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)

HIF-1 是在低氧时诱导产生的一类转录因子,能特异性地结合于缺氧反应元件 (hypoxia responsive element, HRE),靶基因编码包括促红细胞生成因子 (erythropoietin, EPO)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、葡萄糖载体、糖酵解所必需的酶和一些涉及铁代谢及细胞生存的蛋白质。HIF 家族中最重要的一个因子 HIF-1 是由 HIF-1 α 、HIF-1 β 组成的异二聚体, HIF-1 β 也称为芳烃受体的核转位子,是构成性表达成分。HIF-1 α 的表达则受氧分压的调节,在正常氧分压下, HIF-1 α 上的脯氨酰及天冬氨酰残基被羟基化,这使其与 vHL (von Hippel-Lindau tumor suppressor protein) 的亲和力增高,后者通过蛋白酶体途径被降解。在低氧状态下,氧依赖的羟基化受阻,这使 HIF-1 α 免于降解,从而激活目标基因,使 EPO、VEGF 等表达增加,以加强局部氧供^[5]。此外活化的磷脂酰肌醇 3-激酶及促分裂原活化蛋白对合成 HIF-1 亦有调节作用^[6]。近年来 HIF-1 在 IRI 中的作用开始引起关注。Ramzi 等^[7]在心肌 IRI 动物模型中,用脯氨酰羟化酶抑制剂增高细胞的 HIF-1 水平,发现 IL-8 促细胞因子生成的作用明显降低,由细胞因子诱导的白细胞迁移明显减少,同时出现 HO-1 的高表达,表明 HIF-1 在心肌 IRI 中可能起着保护作用。Patel 等^[8]以间断夹闭静脉法观察热缺血预处理对肝移植的保护作用,在再灌注后 15 min 内观察到活化的 HIF-1 与 DNA 序列的结合增多,同时出现 HO-1 的 mRNA 水平增高。另有研究^[9]发现活化的 HIF-1 可上调 iNOS 及 NO 的表达水平,而后两者与 IRI 的关系均十分密切。可见 HIF1 分子由组织缺氧所诱导,而后直接或间接激活的目标基因 EPO、VEGF、HO-1 及 iNOS 等均有增加组织氧供的作用,这些功能在理论上部分解释了缺血预处理对肝移植 IRI 损伤的保护作用。因此,对 HIF-1 表达水平进行干预,可能成为预防与治疗肝移植 IRI 损伤的新途径。

3 可诱导一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)

iNOS 在正常生理状态下仅有微量表达,在病理状态下,脂多糖和(或)TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 等前炎症因子主要通过激活 IKK/NF- κ B 通路,诱导 iNOS 基因表达增加, Taniai 等^[10]报道 IRI 可促进肝细胞表达 iNOS。Hidesuke 等^[11]研究发现在 IRI 中, iNOS 及 NO 的增多是 IL-1 β 依赖性的, IRI 本身通过激活 AKT/IL-1R 途径仅增加 iNOS 的启动子,提高细胞表达 iNOS 及 NO 的潜能。在 IRI 中 iNOS 表达增加是否起着保护作用一直存在争议。Chen 等^[12]认为 iNOS 所致的 NO 的增多会加重肝缺血时的氧化损伤。Kawachi 等^[13]在内皮细胞一氧化氮合酶 (endothelial cell NOS, eNOS) 缺陷及 iNOS 缺陷小鼠 IRI 模型研究发现是 eNOS 而非 iNOS 对 IRI 有保护作用。eNOS 在生理状态下即有表达,对肝

的微循环有保护作用。而 Liu 等^[14]采用非特异性 NOS 拮抗剂,发现肝组织中 P-selectin、ICAM 的 mRNA 表达增高,导致中性粒细胞浸润数量增加。又有研究^[15]发现在脓血症及肝炎中, iNOS 被诱导表达增加,通过保护线粒体的功能及促进 HSP 的表达预防细胞凋亡。Lee 等^[16]在小鼠肝热缺血模型中,观察到再通后 3 h iNOS 缺陷小鼠再灌注延迟,说明 iNOS 对再灌注有调节作用。Kaizu 等^[17]采用腺病毒编码的 iNOS 预处理供体鼠,可以明显减轻原位肝移植 (orthotopic liver transplantation, OLT) 术后肝的 IRI,而 iNOS 特异性抗体能抵消上述作用。总体看来,认为 iNOS 对肝 IRI 有改善作用的文献占多数, iNOS 表达增加,可提高组织 NO 的含量, NO 的扩血管作用可增加组织的氧供,这是积极的一面;但 NO 的合成过程是耗氧的,这是不利的一面。因此,如果在增加 iNOS 表达的同时提高血氧含量,可能会对改善肝 IRI 有较好的效果。从文献中也可看到 iNOS 的调控机制是复杂的,因此,对其作用机制还有待进一步阐明。

4 过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)

PPAR 属于核内激素受体基因转录子超家族,包括 PPAR α 、PPAR δ 及 PPAR γ 三个亚型,主要参与脂肪代谢、脂肪细胞分化及增强胰岛素敏感性,与动脉粥样硬化、糖尿病、炎症性疾病、肿瘤、不育等密切相关。其中 PPAR α 在肝脏的 IRI 中有重要的调节作用, PPAR α 主要在肝细胞而非 Kupffer 细胞中表达,被激活后可诱导过氧化物酶体增殖^[18]。Tomohisa 等^[19]发现在肝 IRI 中 PPAR α ^{-/-} 组小鼠较对照组的损伤明显加重,两组的促炎因子产生无差异,但 PPAR α ^{-/-} 组 iNOS 的表达明显减少,另在体外用氧化剂诱导的鼠类肝细胞的损伤中观察到 PPAR α 对肝细胞有直接的保护作用,因此认为 PPAR α 在 IRI 中是通过调节 iNOS 及直接对抗氧化剂而达到其保护作用的。Ding 等^[20]发现 PPAR δ 对心肌的 IRI 有保护作用,其作用机制可能是抑制了脂多糖诱导的 NF- κ B 降解。另据有关研究报道^[21], PPAR γ 可受 TNF- α 、IL-4 等诱导在白细胞中表达,可抑制 IL-8 对白细胞的趋化作用,推断 PPAR γ 亦可能在 IRI 中起着重要的作用。Ito 等^[22]用 PPAR γ 激活剂匹格列酮在大鼠肺 IRI 模型进行缺血预处理,发现 IRI 后的血管通透性、白细胞浸润、细胞因子的产生均明显降低。因此,在对 IRI 保护中, PPAR 族所起的作用是多方面的,包括调节 iNOS, 对抗氧化剂,影响白细胞的功能等,但其具体作用机制还不明确,作为防治 IRI 的一个靶标还需进一步的研究。

5 促有丝分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)

MAPK 家族包括 ERK (extracellular signal-regulated kinase)、JNK (c-jun N-terminal kinase) 及 p38MAPK 三个成员,组成 3 条重要信号通路,与细胞的生长、分化及应激反应等有关,主要通过将细胞外刺激信号从胞膜传递至胞核及胞质的靶点来完成。其中 JNK 和 p38MAPK 通路选择性地对环境各种理化及炎症因子引起的应激起反应。现有研

究^[23]发现 JNK、p38MAPK 在肝的 IRI 早期即被激活,通过诱导黏附分子、细胞因子表达增加来介导炎症反应。Tetsuya 等^[24]用 JNK 选择性抗体明显提高部分肝叶热缺血后再灌注损伤大鼠的存活率,其血清 ALT 水平、caspase-3 的活性及线粒体 cytochrome C 的溢出均有明显降低,并且抑制了前凋亡因子 BAK 的上调及 BID 的降解,认为 JNK 在不同的 ATP 水平对细胞的凋亡与坏死均有促进作用。在 IRI 中,JNK、p38MAPK 是早期促炎因子(TNF- α 、ROS 等)作用的主要通路^[25],怎样对其阻断以达到减轻 IRI 已引起了研究者的很大关注。有关大鼠肝 IRI 的研究认为 p38MAPK 抑制剂 FR167653 及 JNK 抑制剂 CC-401 均可明显保护肝组织^[26-27],但在人肝 IRI 中的应用情况尚未见报道。

6 TLR4(toll-like receptor 4)

TLRs 家族是一类膜受体,已有 11 个哺乳动物的 TLRs 成员被克隆,可识别细菌、病毒、真菌等病原体上保守的分子结构,在机体的天然免疫系统中起重要作用。TLRs 主要在具抗原递呈作用的细胞上表达,包括巨噬细胞、树突状细胞及 B 细胞等,现有许多研究认为 TLR4 的激活在 IRI 中起重要作用^[28]。Peng 等^[29]在大鼠原位肝移植模型中发现肝冷保存再灌注后短时间内即出现巨噬细胞 TLR4 mRNA 及蛋白水平的增高,IRI 中 TLR4 可能被多种内源性及外源性配体激活,如 LPS、HSPs 以及组织损伤后被降解的间质成分等,TLR4 与配体结合后激活转录因子 NK- κ B,多种促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1 等)及 iNOS 表达增高。在 Wu 等^[30]的 TLR4 缺陷小鼠 IRI 模型中则未出现类似情况。此外,有多项研究^[31]表明在同种异体器官移植中活化的 TLR4 通过诱导树突状细胞成熟,在介导 IRI 引起的排斥反应中起着桥梁作用。另一方面,Man 等^[32]报道免疫抑制剂 FTY720 可减轻 IRI,由此可见,被划归为非抗体依赖的天然免疫系统反应的 IRI 实际与获得性免疫系统有着密切的联系。将 TLR4 作为防治 IRI 的一个靶标是新的研究方向,现有人采用短片段干扰 RNA 及基因治疗来阻断 TLR4 通路,但药物化的 TLR4 抑制剂尚未见使用^[33]。

7 凝血酶受体 (protease-activated receptors, PARs)

PARs 是具有 7 个跨膜区域的 G 蛋白受体,是活细胞对细胞外蛋白溶解活性的感受器,凝血系统的蛋白酶是 PARs 的主要激活物,这提示 PARs 可能在细胞对血管损伤的反应中起重要调节作用。已知人类的 PARs 包括:PAR1、PAR2、PAR3、PAR4,均可被凝血酶激活。据报道 PAR1 是凝血酶依赖性的新月体型肾小球肾炎模型中一个重要的促炎反应受体^[34],Bryan 等^[35]在肝组织观察到 PAR1 主要在窦岸内皮细胞、Kupffer 细胞及白细胞上表达,他们发现通过对凝血酶的抑制可减轻由 LPS 诱导的离体肝损伤,这种作用可能是通过保护白细胞的脱颗粒来实现的;活化的 PAR2 则与白细胞边集及游出有关^[36]。Tsuboi 等^[37]在肠的 IRI 动物模型中发现再灌注后,PAR1 及其激活物凝血酶的表达水平均有明显升高,并伴随着各种炎症因子的表达增加,而抗纤维蛋白酶对这种趋势起抑制作用,现在认为 IRI 中凝血酶/PAR

通路对炎症因子的产生有重要作用。PAR 是如何影响白细胞功能的还不明确,这条通路在肝 IRI 中的作用机制有待进一步阐明,或许可为防治 IRI 提供新途径。

IRI 一直是各类肝脏外科手术面临的难题,在肝移植蓬勃发展的今天,由 IRI 引起的手术并发症更加不容忽视。关于 IRI 的传统研究理论主要包括:各类炎细胞和促炎因子的连锁反应、氧自由基损伤、一氧化氮和内皮素的失衡,以及钙超载等,在此基础上,临床在 IRI 的预防及治疗等方面采取了一系列措施,但均不能根本解决问题,这是由于 IRI 的机制并未完全阐明。本文总结了近年来 IRI 研究中发现的几个较新的分子标志物,这些分子主要与细胞的信号转导系统相关,从中可见,IRI 的作用机制非常复杂,涉及多个信号转导通路和众多细胞因子,通路之间又有交叉,同一个炎症因子可激活几条不同的通路而产生不同的效应(例如 TNF α 在促进炎症反应的同时也促进细胞的凋亡和增殖),不同的细胞因子之间又可存在协同或拮抗作用。此外,器官移植中的 IRI 损伤因其同时存在同种异体的免疫排斥反应而更具特殊性,并且两者之间还存在相互促进的作用,如 TLR4 在介导 IRI 引起的排斥反应中起着桥梁作用。在动物实验中,发现对这些分子的表达或功能的干预,可对 IRI 有减轻或加重作用,但这些方法要应用于临床还有待时日。IRI 的发生、发展是多因素的综合作用,单因素的研究往往趋于片面,甚至相互矛盾,所以,要最终揭示 IRI 的作用机制,以对 IRI 进行预防和治疗,还需要更多、更深入、更全面的综合性研究。

[参考文献]

- [1] Shen X D, Ke B, Zhai Y, Gao F, Anselmo D, Lassman C R, et al. Stat4 and stat6 signaling in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice; HO-1 dependence of stat4 disruption-mediated cytoprotection[J]. *Hepatology*, 2003, 37: 296-303.
- [2] Meredith E P, Kenneth M M, David J F. IL-12, but not IFN- α , promotes STAT4 activation and Th1 development in murine CD4 T cells expressing a chimeric murine/human Stat2 Gene1 [J]. *J Immunol*, 2005, 174: 294-301.
- [3] Kiyoshi T, Shizuo A. STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses[J]. *Cyt Growth Factor Rev*, 2000, 11: 199-207.
- [4] Matsumoto T, O'Malley K, Efron P A, Burger C, McAuliffe P F, Scumpia P O, et al. Interleukin-6 and STAT3 protect the liver from hepatic ischemia and reperfusion injury during ischemic preconditioning[J]. *Surgery*, 2006, 140: 793-802.
- [5] Buddhadeb D, Roberto B. HO-1 induction by HIF-1: a new mechanism for delayed cardioprotection [J]? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289: 522-524.
- [6] Yeo E J, Chun Y S, Park J W. New anticancer strategies targeting HIF-1[J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68: 1061-1069.
- [7] Ramzi O, Ramesh N, Fadi S, Bernard J F, Drew J, Alpha A F, et al. HIF-1 activation attenuates postischemic myocardial injury; role for heme oxygenase-1 in modulating microvascular chemokine generation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289: 542-548.
- [8] Patel A, van de Poll M C, Greve J W, Buurman W A, Fearon K

- C, McNally S J, et al. Early stress protein gene expression in a human model of ischemic preconditioning[J]. *Transplantation*, 2004, 78: 1479-1487.
- [9] Coulet F, Nadaud S, Agrapart M, Soubrier F. Identification of hypoxia-response element in the human endothelial nitric-oxide synthase gene promoter[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 46230-46240.
- [10] Taniai H, Hines I N, Bharwani S, Maloney R E, Nimura Y, Gao B, et al. Susceptibility of murine periportal hepatocytes to hypoxia-reoxygenation: role for NO and Kupffer cell-derived oxidants[J]. *Hepatology*, 2004, 39: 1544-1552.
- [11] Hidesuke Y, Masaki K, Hideyuki Y. Hepatic ischemia/reperfusion upregulates the susceptibility of hepatocytes to confer the induction of inducible nitric oxide synthase gene expression[J]. *Shock*, 2006, 26: 162-168.
- [12] Chen T, Zamora R, Zuckerbraun B, Billiar T R. Role of nitric oxide in liver injury[J]. *Curr Mol Med*, 2003, 3: 519-526.
- [13] Kawachi S, Hines I N, Laroux F S, Hoffman J, Bharwani S, Gray L, et al. Nitric oxide synthase and posts ischemic liver injury[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 276: 851-854.
- [14] Liu P, Xu B, Hock C E, Nagele R, Sun F F, Wong P Y. NO modulates P-selectin and ICAM-1 mRNA expression and hemodynamic alterations in hepatic I/R[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1998, 275: 2191-2198.
- [15] Yee L J, Knapp S, Burgner D, Hennig B J, Frodsham A J, Wright M, et al. Inducible nitric oxide synthase gene haplotypes and the outcome of hepatitis C virus infection[J]. *Genes Immun*, 2004, 5: 183-187.
- [16] Lee V G, Johnson M L, Baust J, Laubach V E, Watkins S C, Billiar T R. The roles of iNOS in liver ischemia-reperfusion injury [J]. *Shock*, 2001, 16: 355-360.
- [17] Kaizu T, Ikeda A, Nakao A, Takahashi Y, Tsung A, Kohmoto J, et al. Donor graft adenoviral iNOS gene transfer ameliorates rat liver transplant preservation injury and improves survival [J]. *Hepatology*, 2006, 43: 464-473.
- [18] Peters J M, Rusyn I, Rose M L, Gonzalez F J, Thurman R G. Peroxisome proliferator-activated receptor is restricted to hepatic parenchymal cells, not Kupffer cells; implications for the mechanism of action of peroxisome proliferators in hepatocarcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2000, 21: 823-826.
- [19] Tomohisa O, Lentsch A B. Peroxisome proliferator-activated receptor regulates posts ischemic liver injury[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 286: 606-612.
- [20] Ding G, Cheng L, Qin Q, Frontin S, Yang Q. PPAR δ modulates lipopolysaccharide-induced TNF α inflammation signaling in cultured cardiomyocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 40: 821-828.
- [21] Youssef J, Badr M. Role of peroxisome proliferators-activated receptors in inflammation control[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2004, 3: 156-166.
- [22] Ito K, Shimada J, Kato D, Toda S, Takagi T, Naito Y, et al. Protective effects of preischemic treatment with pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand, on lung ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2004, 25: 530-536.
- [23] Lee K, Kim I and S, Lee I Y. SP600125, a selective JNK inhibitor, aggravates hepatic ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38: 408-416.
- [24] Tetsuya U, Brydon B, Steve T S, Yoshitaka S, Graham K B, John K W, et al. JNK mediates hepatic ischemia reperfusion injury[J]. *J Hepatol*, 2005, 42: 850-859.
- [25] Schwabe R F, Brenner D A. Mechanisms of liver injury. I. TNF- α -induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290: 583-589.
- [26] Borosa P, Bromberg J S. New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury[J]. *Am J Transplant*, 2006, 6: 652-658.
- [27] Kobayashi M, Takeyoshi I, Yoshinari D, Matsumoto K, Morishita Y. P38 mitogen-activated protein kinase inhibition attenuates ischemia-reperfusion injury of the rat liver[J]. *Surgery*, 2002, 131: 344-349.
- [28] Uehara T, Xi P X, Bennett B, Satoh Y, Friedman G, Currin R, et al. c-Jun N-terminal kinase mediates hepatic injury after rat liver transplantation[J]. *Transplantation*, 2004, 78: 324-332.
- [29] Peng Y, Liu Z J, Gong J P, Liu H Z, Gan L, Li S B. Expression of toll-like receptor 4 and MD-2 gene and protein in Kupffer cells after ischemia-reperfusion in rat liver graft[J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 2890-2903.
- [30] Wu H S, Zhang J X, Wang L, Tian Y, Wang H, Rotstein O. Toll-like receptor 4 involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *Hepatobil Pancreat Dis Int*, 2004, 3: 250-253.
- [31] Sofia B, Muriel S, Alain L M, Daniel A, Véronique F, Michel G. Amplification of T-cell responses by neutrophils: relevance to allograft immunity[J]. *Immunol Lett*, 2004, 94: 163-166.
- [32] Man K, Ng K T, Lee T K, Lo C M, Sun C K, Li X L, et al. FTY720 attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in normal and cirrhotic livers[J]. *Am J Transplant*, 2005, 5: 40-49.
- [33] Pasterkamp G, van Keulen J K, de Kleijn D P V. Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease[J]. *Eur J Clin Invest*, 2004, 34: 328-334.
- [34] Cunningham M A, Rondeau E, Chen X, Coughlin S R, Holdsworth S R, Tipping P G. Protease-activated receptor 1 mediates thrombin-dependent, cell-mediated renal inflammation in crescentic glomerulonephritis[J]. *J Exp Med*, 2000, 191: 455-462.
- [35] Bryan L C, Frederic M, Umesh M H, Patricia E G, Robert A R. Thrombin and protease-activated receptor-1 agonists promote lipopolysaccharide-induced hepatocellular injury in perfused livers[J]. *J Pharm Exper*, 2003, 305: 417-425.
- [36] Riewald M, Ruf W. Science review: role of coagulation protease cascades in sepsis[J]. *Crit Care*, 2003, 7: 123-129.
- [37] Tsuboi H, Naito Y, Katada K, Takagi T, Handa O, Kokura S, et al. Role of the thrombin/protease-activated receptor 1 pathway in intestinal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292: 678-683.