

· 综述 ·

低氧性肺动脉高压发生机制中气体信号分子的病理生理学意义

田悦 综述,杜军保 审校

(北京大学第一医院儿科,北京 100034)

[中图分类号] R54 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2008)01-0098-04

低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension)是临床众多心肺疾病发生发展过程中重要的病理生理环节。低氧性肺血管结构重建是低氧性肺动脉高压的重要病理基础^[1],其主要特征为肺动脉中膜平滑肌细胞增生、肥大,中膜增厚;非肌型动脉及部分肌型动脉肌化,形成肌型动脉以及血管壁中细胞外基质增多。低氧性肺血管收缩是肺动脉高压的始动环节和主要病理过程,后期以肺血管结构重建为主要病理生理改变。因此积极寻找低氧性肺动脉高压的发病机制,对引导其治疗有积极的推动作用。

迄今为止,低氧性肺血管结构重建的形成机制尚未完全清楚。大量研究表明,肺血管收缩反应增强和低氧性肺血管结构重构是低氧性肺动脉高压形成的主要病理生理基础。低氧可直接促进血管壁细胞的增殖,低氧刺激使肺血管内皮细胞结构和功能受损,破坏了内皮的屏障作用,使血液中的丝裂原进入血管壁,促进肺动脉平滑肌细胞增殖和外周血管的异常肌化。另外,多种血管活性因子(血管紧张素-Ⅱ、内皮素-1、血小板源性生长因子、5-羟色胺、血管内皮生长因子等)在低氧时表达分泌失调,促使肺动脉平滑肌细胞增殖以及细胞外基质的分泌,参与了低氧性肺血管结构重建的形成^[2~4]。

正常肺动脉压力为收缩压2.0~4.0 kPa(15~30 mmHg),舒张压0.7~1.3 kPa(5~10 mmHg),平均压为1.3~2.7 kPa(10~20 mmHg)。在静息状态下,当肺动脉收缩压超过4.0 kPa(30 mmHg),或肺动脉平均压超过2.67 kPa(20 mmHg)时,即表示有肺动脉高压存在^[5]。

先后发现的气体信号分子一氧化碳(carbon

monoxide, CO)和一氧化氮(nitric oxide, NO),都能够激活可溶性腺苷酸环化酶(sGC),升高细胞内环磷酸鸟苷(cGMP)水平,发挥舒张血管、抑制平滑肌细胞增殖等生物学效应。硫化氢(H₂S)同上述二者相似,已被证实,在低氧性肺动脉高压发病过程中发挥重要的作用。

1 NO对低氧性肺动脉高压的调节作用及其机制

一氧化氮是体内发现的第一个气体信号分子,是一种内皮衍生舒张因子,其主要在内皮细胞经NOS催化L-精氨酸而生成的内源性NO体系,通过升高细胞cGMP水平,发挥舒血管、抑制血管平滑肌细胞增殖等多种生物学效应,对慢性低氧性肺血管结构重建起重要的调节作用。早在1980年,Furchgott等就通过对离体兔主动脉条的研究,证明血管内皮细胞受到刺激后能够释放一种具有舒张血管作用的物质:内皮源性舒张因子(EDRF)。1986年以后人们相继证实NO即EDRF。此后,对一氧化氮在人体中各个系统中的作用的研究取得了长足的进展。其中,NO与低氧性肺动脉高压的形成关系密切,目前多数研究认为低氧性肺动脉高压形成时肺动脉内皮细胞NOS基因和蛋白表达水平下调,NOS含量降低,活性丧失,NO生成减少,低氧刺激可直接抑制一氧化氮合酶(eNOS)活性,抑制大鼠肺动脉组织的eNOS基因和蛋白表达,使NOS含量降低并活性丧失,且eNOS表达的下调与肺动脉压力升高呈负相关。肺血管的定位研究表明低氧性肺动脉高压大鼠远端肺动脉eNOS基因表达下调更严重,因

[收稿日期]2007-04-30;[修回日期]2007-06-19
[基金资助]国家杰出青年科学基金(30425010)、国家自然科学基金(30571971)、国家自然科学基金重点项目(30630031)以及国家重点基础研究发展规划(2006CB503807)资助。
[作者简介]田悦,女,在读直博研究生。主攻方向:心肺血管疾病。

此揭示了肺 NO 系统损伤是其节段依赖性肺血管结构重建发病的重要病理学基础^[6]。但也有学者认为^[7]在肺动脉高压形成过程中 NO 体系上调,起代偿性调节作用,这可能与 NO 对细胞凋亡根据细胞的类型、细胞内及细胞外的氧化还原环境、NO 产生的速度以及局部 NO 浓度不同而表现出促凋亡或抗凋亡的双重效应有关^[8]。

动物实验证实 NOS/NO 系统在肺动脉高压形成中具有重要调节作用。本课题组研究结果发现^[9],NOS 抑制剂 L-NAME 可显著增强低氧性肺血管收缩反应、加重肺血管结构重建程度,而 NO 前体 L-精氨酸和外源性 NO 供体硝普钠均可使肺血管结构重建和肺动脉高压逆转。NO 调节肺血管结构重建的形成可能通过以下几条途径:①NO 对肺动脉平滑肌细胞增殖的直接抑制作用,NOS 拮抗剂抑制内源性 NO 的生成可增强肺动脉 ET-1 和 PDGF 的表达,加剧低氧性肺血管细胞增殖^[10];②促进肺动脉平滑肌细胞的凋亡,主要表现为肺动脉平滑肌细胞 Fas 表达上调^[11];③抑制肺间质胶原的过度堆积,缓解低氧性肺血管结构重建的形成;④对细胞增殖的直接抑制,表现为增殖指标的下调和对内皮素、血小板源性生长因子和尾加压素(U-II)等促进细胞增殖因子抑制作用;⑤NO 可防止低氧引起的肺血管内皮损伤,保护内皮细胞的屏障作用,从而抑制平滑肌细胞及其前体细胞的增殖和前体细胞向平滑肌细胞的转化,防止低氧性肺血管结构重建的形成^[12];⑥与其他气体信号分子的相互作用。

NO 是目前应用最为广泛和成熟的气体信号分子。NO 及其相关物质吸入治疗在肺动脉高压中的应用尤为广泛。临床应用小剂量 NO 吸入治疗新生儿持续肺动脉高压,成为肺动脉高压治疗领域的里程碑。目前对 NO 相关物质吸入包括 NO 供体(硝酸甘油和硝普钠)、NO 前体(L-精氨酸)、NO 亲和试剂及磷酸二酯酶抑制剂等在临床治疗中的应用,结果表明这些治疗具有用量小、副作用小、价格便宜和可在有或无呼吸机通气状态下进行的一些特点,是临床替代 iNO 治疗肺动脉高压(PH)的又一个可选择的方法,对其的临床应用研究将是今后 PH 治疗领域的研究方向。

2 CO 对低氧性肺动脉高压的调节作用及其机制

长期以来,人们一直认为 CO 是一种有害气体,近年研究显示,肺血管平滑肌细胞和内皮细胞均有

HO 蛋白及其活性表达,是内源性 CO 生成和释放的重要场所之一,提示内源性 CO 可能也参与肺动脉高压发生。本课题组研究^[13]发现 CO 可缓解低氧性肺血管结构重建和肺动脉高压形成,HO/CO 系统在低氧性肺动脉高压形成中具有重要调节作用。HO-1 抑制剂锌原卟啉 IX 使低氧大鼠肺动脉压力增高,肺动脉显微和超微结构改变加重;而外源性 CO 使低氧大鼠肺动脉压力降低,肺动脉压力降低,肺动脉结构改变缓解。

CO 体系对低氧性肺血管结构重建和肺动脉高压的调节机制可能有以下途径:①内源性 CO 对离体和体平滑肌细胞的增殖都有明显的抑制作用,这主要是通过抑制 E2F-1 转录作用于 G1/S 期实现的^[14];②内源性 CO 可通过旁分泌方式抑制 ET-1 和血小板衍生生长因子-B(PDGF-B)的合成释放,以 G0/G1 期为靶点,调节细胞周期循环,从而抑制血管平滑肌细胞分裂和增殖;③CO 对低氧大鼠肺血管平滑肌细胞有抑制增殖和促进凋亡作用,这可能参与 CO 体系对低氧性肺血管结构重建的调节机制,NF- κ B 及 caspase-3 可能分别涉及 CO 调节肺动脉平滑肌细胞增殖与凋亡的调控途径^[15],该效应的细胞信号转导机制为干预丝裂原活化蛋白激酶途径中的细胞外信号调节的蛋白激酶通路^[16];④CO 可明显抑制低氧大鼠肺动脉细胞外基质胶原蛋白的堆积,从而缓解低氧性肺血管结构重建的形成。应用 HO 抑制剂锌原卟啉(ZnPP)后,低氧处理的大鼠的肺动脉 Pro- α 1(III)胶原 mRNA 表达进一步增强^[17];⑤对于肺动脉的直接扩张作用:CO 扩血管的机制,除可以通过激活 sGC,增加细胞内 cGMP 水平,从而发挥扩血管效应之外,研究表明许多非 sGC/cGMP 途径(激活 BKca 通道,KATP 通道,花生四烯酸代谢物介导的血管活性等)也具有调节作用^[18];⑥与其他气体信号分子的相互作用。

3 硫化氢对低氧性肺动脉高压的调节作用及其机制

具有臭鸡蛋气味的硫化氢(H_2S)以其呼吸道损害等病理效应一向被认为是毒气体,本课题组^[19]从上世纪 90 年代后期开始开展 H_2S 在心血管疾病发病中的病理生理学意义研究,在国际学术界率先提出内源性 H_2S 是心血管功能调节的新型气体信号分子,对心血管疾病发病调节作用具有普遍性意义。哺乳动物细胞胞浆内以 L-半胱氨酸为底物,在胱硫醚- β -合酶(CBS)和胱硫醚- γ -裂解酶

(CSE)的作用下产生 H_2S ,在线粒体内,则以 β -巯基丙酮酸为底物,在巯基丙酮酸转硫酶的作用下产生 H_2S 。在心血管系统, H_2S 有舒张血管、抑制血管平滑肌细胞增殖及促进其凋亡和负性心脏变力作用等广泛效应,在肺动脉高压、高血压、心肌缺血及感染性、高同型半胱氨酸血症和内毒素性休克等多种心血管疾病发病中都具有重要的病理生理意义^[20]。

研究证实^[21],低氧大鼠组血浆 H_2S 含量明显减少,在低氧 21 d 的大鼠体内 H_2S 含量下降,给予 CSE 的抑制剂炔丙基甘氨酸(PPG)后,伴随着体内 H_2S 水平的下降,肺动脉压力会进一步升高。外源性给予 H_2S 后,明显降低缺氧性肺动脉高压和右心室肥大。CSE/ H_2S 体系在低氧性肺动脉高压形成中显著下调,硫化氢供体 NaHS 可拮抗低氧性肺动脉高压形成并缓解肺动脉血管结构重建,CSE 抑制剂 PPG 加重肺动脉高压的程度。其作用机制包括:① H_2S 抑制低氧性肺动脉平滑肌细胞增殖, H_2S 可使低氧性肺中、小型动脉的增殖指数下降至正常水平,增殖相关分子 U- II 蛋白表达显著降低;②诱导低氧性肺动脉平滑肌细胞凋亡,Bcl-2 蛋白表达显著降低,Fas 和 caspase-3 蛋白表达显著增高,提示 Bcl-2, Fas 和 caspase-3 参与 H_2S 诱导肺动脉平滑肌细胞凋亡的信号转导;③抑制肺动脉细胞外基质过度堆积,抑制胶原蛋白和弹性蛋白的合成是 H_2S 抑制肺动脉细胞外基质过度堆积的主要环节,在低氧条件下, H_2S 可以缓解低氧性肺血管基质重建^[22];④与其他气体信号分子的相互作用。

4 气体信号分子之间的相互作用

本课题组以及国外其他实验初步表明,气体信号分子之间、气体信号分子与血管活性肽、生长因子等可能存在着复杂的“对话”(cross-talk),通过复杂的相互作用以整合模式调节生理状态及疾病状态下心血管系统结构和功能的变化。

4.1 NO 和 CO 的相互作用

以往研究表明在低氧性肺动脉高压大鼠给予 ZnPP 阻断内源性 CO 生成可显著增加血浆 NO 含量和肺组织中 eNOS 蛋白表达,内源性 NO 通过促进 HO-1 蛋白表达促进 CO 生成。在低氧性肺动脉高压大鼠阻断内源性 CO 生成后,血浆 NO 含量和肺组织中 eNOS 蛋白表达显著增加,提示内源性 CO 通过抑制 NOS 的蛋白表达抑制 NO 生成。但也有研究表明 CO 促进 NO 合成。目前较为全面的解释是 CO 对 NOS/NO 的调节作用可能是双向的,与作用局部

CO 的浓度有关,NO 体系能够诱导氧及低氧性肺动脉平滑肌细胞 HO-1 mRNA 的表达,使肺动脉 HO/CO 体系上调,并且 NO 对肺动脉 HO/CO 体系的促进作用可能参与了 NO 对低氧性肺血管结构重建和肺动脉高压调节。HO-1 抑制剂 ZnPP 的应用使低氧大鼠肺组织匀浆及血浆 NO 含量增高,提示内源性 CO 对肺动脉 NOS/NO 系统具有明显抑制作用。CO、NO 及其调节网络对肺动脉平滑肌细胞增殖的抑制及凋亡的促进,对肺动脉高压时的胶原堆积有抑制作用,对平滑肌细胞增殖促进因子有抑制作用,对肺动脉高压形成机制中平滑肌细胞增殖抑制因子有促进作用。

总之,CO 抑制内源性 NOS/NO 系统,而 NO 促进内源性 HO/CO 系统,为进一步深化低氧性肺动脉发病机制提供了新的论据。气体信号分子 NO 和 CO 在细胞与分子水平的相互作用可能代表了两种分子间相互调节的一种快速、安全的生物学通路,即内皮细胞与平滑肌细胞通路各自所分泌的气体分子在细胞-分子水平网络式相互调节,在维持机体稳态中有重要病理生理意义。

4.2 H_2S 与 NO 的相互作用

本课题组在低氧性肺动脉高压中研究发现^[19],给予外源性 H_2S 的供体后,血浆 NO 含量、肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白及其基因表达较低氧组显著下降;给予 PPG 抑制内源性 H_2S 生成后,血浆 NO 含量、肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白及其基因表达较低氧组显著升高,提示在低氧性肺动脉高压中 H_2S 抑制 NO 的合成,eNOS mRNA 转录和蛋白合成是其作用环节。Zhong 等^[23]的研究表明应用 NOS 抑制剂 L-NAME 后大鼠血浆 H_2S 含量显著降低,血管组织中 H_2S 产率下降,CSE mRNA 转录下调,提示内源性 NO 可能通过促进 CSE 转录及活性促进 H_2S 生成。 H_2S 舒张效应主要通过血管平滑肌上的 KATP 通路进行调节,一部分通过内皮细胞对钾离子的电导而实现。但在低氧性肺动脉高压中的结果表明阻断内源性 NO 生成后肺组织 CSE 活性显著增加,提示内源性 NO 抑制肺组织 H_2S 生成。

内源性 H_2S 可抑制肺动脉内皮细胞的内皮源 eNOS 表达,血浆 NO 含量下降。当应用 PPG 阻断内源性 H_2S 生成时,体内的 NO 水平升高,内皮细胞 eNOS 表达亦增高。本课题组^[24]在自发性高血压大鼠(SHR)和正常大鼠比较表明 NaHS 可显著增加 SHR 大鼠和正常大鼠主动脉对硝普钠的反应性,PPG 阻断内源性 H_2S 生成后可显著降低正常大鼠主动脉对硝普钠的反应性,但不影响 SHR 大鼠主动

脉对硝普钠的反应性。

4.3 H₂S 与 CO 的相互作用

本课题组^[25]在低氧性肺动脉高压中观察了 H₂S 对 CO 的影响,发现外源性给予 H₂S 的供体后,血浆 CO 含量、肺动脉平滑肌 HO-1 蛋白表达及 mRNA 表达却较低氧组显著升高;反之,CSE 抑制剂 PPG 显著降低血浆 CO 含量、肺动脉平滑肌细胞 HO-1 蛋白表达及 mRNA 表达,提示 H₂S 可促进肺组织中 CO 合成,HO-1 mRNA 转录和蛋白合成水平是其作用环节,H₂S 可通过 HO-1/CO 体系参与低氧时肺循环的调节。

综上所述,气体信号分子作为一种独特的血管活性物质,在心血管系统,特别是低氧性肺动脉高压过程中具有重要的生理和病理调节意义,目前的研究工作已经取得了丰硕的成果,但同时我们也应该认识到,低氧性肺动脉高压的形成机制非常复杂,有许多问题尚未解决。尚有待科研工作者进一步努力探索。

NO、CO、H₂S 三种古老而又简单的无机气体,作为三种气体信号分子参与了以低氧性肺动脉高压为代表的心血管系统疾病的生理及病理过程,并起到重要的调节作用,可以相信,这三种气体信号分子将会给今后的研究注入新的生机和活力^[26,27]。

[参 考 文 献]

[1] Vender RL. Chronic hypoxic pulmonary hypertension: cell biology to pathophysiology [J]. Chest, 1994, 106(4): 236-243.

[2] 王培勇,刘健,许蜀闽. 缺氧对培养的肺动脉内皮细胞血管紧张素 II 分泌的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 1997, 13(1): 25-27.

[3] Nakanishi K, Tajima F, Nakata Y, Osada H, Kato T. Expression of endothelin-1 in rats developing hypobaric hypoxia induced pulmonary hypertension [J]. Lab Invest, 1999, 79(5): 1347-1357.

[4] Bialecki RA, Stinson-Fisher C, Murdoch W. A novel orally active endothelin-A receptor antagonist, ZD1611, prevents chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension in the rat [J]. Chest, 1998, 114(Suppl): 91.

[5] 杜军保. 缺氧性肺动脉高压[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社. 1994. 79.

[6] Du JB, Qi JG, Zhao B, Li WZ. Nitric oxide synthase expression and localization in pulmonary artery of hypoxic pulmonary hypertensive rats[J]. Chin Med Sci J, 1999, 14(3):184.

[7] 杜军保,李万镇,赵斌. 低氧对大鼠不同节段肺动脉一氧化氮合酶 mRNA 表达的影响[J]. 中华医学杂志, 1998, 78(6): 420-422.

[8] Choi BM, Pae HO, Jang SI, Kim YM, Chung HT. Nitric oxide as a pro-apoptotic as well as anti-apoptotic modulator [J]. J Biochem Mol Biol, 2002, 35(7):116-126.

[9] 杜军保,李万镇,赵斌. 内源性一氧化氮对大鼠慢性缺氧性肺动脉高压的调节作用[J]. 中华儿科杂志, 1998, 36(2):89.

[10] 杜军保,金红芳,唐朝枢. 关注气体小分子在心血管疾病发病中的意义[J]. 中国循证医学杂志, 2006, 1(2):86-88.

[11] 齐建光,杜军保,郭志良. L-精氨酸调节大鼠低氧性肺血管结构重建与肺动脉平滑肌细胞凋亡[J]. 北京大学学报(医学版), 2001, 33(4):339-343.

[12] 马占敏,刘秀兰,杜军保. L-精氨酸对缺氧大鼠肺动脉胶原含量的影响[J]. 实用心脑血管病杂志, 2000, 8(3): 135-137.

[13] 石云,杜军保,曾超美. 内源性一氧化碳/血红素氧合酶系统在缺氧性肺动脉高压形成中的作用[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(1):47-51.

[14] 宫丽敏,杜军保,石云. 一氧化碳对缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2001, 16(5): 257-259.

[15] 宫丽敏,杜军保,赵卫红. 内源性一氧化碳调节肺动脉平滑肌细胞增殖的信号转导[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(1): 28-32.

[16] Gong LM, Du JB, Shi L, Zhang CY, Tang CS. Effects of endogenous carbonmonoxide on collagen synthesis in pulmonary artery in rats under hypoxia [J]. Life Sci, 2004, 74(3): 1225-1241.

[17] Foresti R, Hammad J, Clark JE, Johnson TR, Mann BE, Friebe A, Green CJ, Motterlini R. Vasoactive properties of CORM-3, a novel water-soluble carbon monoxide-releasing molecule [J]. Br J Pharmacol, 2004, 142(4): 453-460.

[18] Dubuis E, Potier M, Wang R, Vandier C. Continuous inhalation of carbon monoxide attenuates hypoxic pulmonary hypertension development presumably through activation of BKCa channels [J]. Cardiovasc Res, 2005, 65(7): 751-761.

[19] 杜军保,陈晓波,耿彬,蒋宏峰,唐朝枢. 硫化氢作为心血管信号分子的研究[J]. 北京大学学报(医学版), 2002, 34(2): 187.

[20] 耿彬,杜军保,唐朝枢. 敏感硫电极法在测定心血管组织细胞及血浆脱硫醚-γ-裂解酶/硫化氢的应用[J]. 北京大学学报(医学版), 2005, 37(5): 545-548.

[21] 张春雨,杜军保,卜定方. 低氧性肺动脉高压大鼠肺组织硫化氢的变化[J]. 基础医学与临床, 2004, 24(2): 145-148.

[22] Jin HF, Cong BL, Zhao B, Zhang CY, Liu XM, Zhou WJ, et al. Effects of hydrogen sulfide on hypoxic pulmonary vascular structural remodeling [J]. Life Sci 2006, 78(9): 1299-1309.

[23] Zhong G, Chen F, Cheng Y, Tang C, Du J. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase [J]. J Hypertens, 2003, 21(3):1879-1885.

[24] Zhang QY, Du JB, Zhou WJ, Yan H, Tang CS, Zhang CY. Impact of hydrogen sulfide on carbon monoxide/heme oxygenase pathway in the pathogenesis of hypoxic pulmonary hypertension [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 317(2):30-37.

[25] 张清友,杜军保,张春雨,唐朝枢. 低氧性肺动脉高压形成中气体信号分子硫化氢对一氧化碳/血红素加氧酶途径的影响. 中华结核与呼吸杂志, 2004, 27(10):659-663.

[26] 蔡俊伟,秦玉明,贾晓明. 吸入一氧化氮对持续肺高压新生儿血小板聚集功能的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2003, 5(1): 35-36.

[27] 向建文,杨琳琳,陈运彬. 一氧化氮治疗新生儿持续肺动脉高压的临床研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2004, 6(6):513-515.

(本文编辑:吉耕中)