

论著 · 临床研究

HIF-1 α 、ET-1 和 iNOS 在新生儿缺氧性肺动脉高压发病中的作用

王莉 朱艳萍 李明霞

(新疆医科大学第一附属医院新生儿科,新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘要] **目的** 探讨缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、内皮素-1 (ET-1)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 在新生儿缺氧性肺动脉高压 (HPH) 发病机制中的意义。**方法** 选取 2006 年 6 月至 2009 年 11 月在我院住院的 75 例足月 HPH 新生儿 (轻度 29 例,中度 25 例,重度 21 例) 及足月非 HPH 新生儿 22 例 (对照组),于生后 1、3、7 d 采用 ELASA 测定血清 HIF-1 α 、iNOS 和 ET-1 水平。**结果** 生后第 1 天,轻、中、重度 HPH 组血清 HIF-1 α 和 ET-1 较对照组升高 ($P < 0.01$),而且随着 HPH 程度的加重,HIF-1 α 和 ET-1 逐渐增高 ($P < 0.05$);中、重度组血清 iNOS 较对照组升高 ($P < 0.01$)。生后第 3 天时,中度组血清 ET-1,重度组血清 HIF-1 α 、ET-1 和 iNOS 较对照组升高 ($P < 0.05$)。生后第 7 天时,重度组血清 ET-1 仍高于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** HPH 患儿血清 HIF-1 α 、ET-1 及 iNOS 水平升高,导致 ET-1 与 NO 平衡失调,这可能在 HPH 发生中起了重要的作用。[中国当代儿科杂志,2011,13(1):8-11]

[关键词] 缺氧性肺动脉高压; 缺氧诱导因子-1 α ; 内皮素-1; 诱导型一氧化氮合酶; 新生儿
[中图分类号] R722 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)01-0008-04

Role of hypoxia-inducible factor-1 α endothelin-1 and inducible nitric oxide synthase in the pathogenesis of hypoxia-induced pulmonary hypertension of the newborn

WANG Li, ZHU Yan-Ping, LI Ming-Xia. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Li M-X, Email: limingxia1203@sohu.com)

Abstract: Objective To investigate the roles of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), endothelin-1 (ET-1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in the pathogenesis of hypoxia-induced pulmonary hypertension (HPH) of the newborn. **Methods** Seventy-five term hospitalized neonates with HPH (mild 29 cases, moderate 25 cases, severe 21 cases) and 22 term hospitalized neonates without HPH (control group) were enrolled between June 2006 and November 2009. Serum levels of HIF-1 α , iNOS and ET-1 were measured using ELASA 1, 3 and 7 days after birth. **Results** Serum concentrations of HIF-1 α and ET-1 in the mild, moderate and severe HPH groups were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$) 1 day after birth, and were related to the severity of HPH. The serum iNOS concentrations in the moderate and severe HPH groups were also significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). By 3 days after birth, serum ET-1 concentration in the moderate HPH group and serum concentrations of HIF-1 α , ET-1 and iNOS in the severe HPH group reminded significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). At 7 days after birth, serum ET-1 concentration in the severe HPH group still remained higher than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** Serum levels of HIF-1 α , ET-1 and iNOS increase in neonates with HPH, resulting in an imbalance of ET-1 and NO. This may be of importance in the pathogenesis of neonatal HPH.

[Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (1): 8-11]

Key words: Hypoxia-induced pulmonary hypertension; Hypoxia-inducible factor-1 α ; Endothelin-1; Inducible nitric oxide synthase; Neonate

新生儿缺氧性肺动脉高压(hypoxia-induced pulmonary hypertension,HPH)临床并不少见,发展为新生儿持续性肺动脉高压(persistent pulmonary hypertension of the newborn,PPHN)则预后差,危及生命。

其发病机制不清,研究发现血管收缩因子内皮素-1 (endothelin-1,ET-1)和舒张因子一氧化氮(nitric oxide,NO)之间的平衡失调起重要作用^[1]。成人HPH及相关动物实验发现缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-in-

[收稿日期]2010-05-18;[修回日期]2010-06-30
[作者简介]王莉,女,硕士研究生,副主任医师。
[通信作者]李明霞,主任医师。

ducible factor-1 α , HIF-1 α) 在转录水平参与了 ET-1 和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的基因表达调控及 HPH 的发病^[2]。但 HIF-1 α 在新生儿是否起同样作用仍不清楚。本研究通过动态测定 HPH 新生儿血清 HIF-1 α 、ET-1、iNOS 水平的变化, 了解 HIF-1 α 、ET-1、iNOS 与肺动脉收缩压(PASP) 的关系, 为进一步探讨新的治疗方法提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 HPH 组 选择 2006 年 6 月至 2009 年 11 月在我院住院的足月 HPH 新生儿 75 例, 男 41 例, 女 34 例; 胎龄 38.5 $\pm$ 2.9 周; 出生体重 2 978 $\pm$ 324 g。纳入标准: 有明确的围产期缺氧史、低氧血症; 合并肺动脉高压(PASP $\geq$ 40 mmHg)。其中轻度组 29 例(40 mmHg $\sim$); 中度组 25 例(50 mmHg $\sim$); 重度组 21 例(70 mmHg $\sim$)^[3,4]。

1.1.2 对照组 选择同期住院的足月非 HPH 新生儿 22 例, 男 12 例, 女 10 例; 胎龄 39.2 $\pm$ 2.5 周, 出生体重 2 998 $\pm$ 345 g。纳入标准: 无低氧血症, 未合并肺动脉高压(PASP < 40 mmHg)。两组新生儿性别、胎龄及出生体重比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 研究方法

1.2.1 PASP 测定 于生后 1、3、7 d 采用床边超声诊断仪检测三尖瓣返流压差, 根据简化 Bernoulli

方程^[5]得出 PASP, 或动脉导管、卵圆孔未闭处分流最大速度, 计算主、肺动脉收缩期最大压差^[6], 得出 PASP。

1.2.2 血气分析 生后 1、3、7 d 采集左侧桡动脉血行血气分析, 记录血氧分压(PaO₂)、PaO₂/FiO₂。

1.2.3 血清 HIF-1 α 、ET-1、iNOS 水平测定 于生后 1、3、7 d 采集外周静脉血 2 mL, 常温下 3 000 rpm 离心 10 min, 抽取上清液, -80℃ 冰箱保存。用 ELASA 法测定。试剂盒由上海西唐生物科技有限公司提供。

1.2.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 多组均数比较用方差分析及 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 及 PASP 值比较

本研究发现, 和对照组比较, 生后 1 d 时 HPH 组 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 降低($P < 0.01$), PASP 升高($P < 0.01$), 差异有统计学意义; 生后 3 d 时, HPH 组 PASP 高于对照组($P < 0.01$), 其中重度 HPH 组 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 仍低于对照组($P < 0.05$); 生后 7 d 时重度 HPH 组 PASP 仍然高于对照组和轻、中度 HPH 组($P < 0.05$), PaO₂、PaO₂/FiO₂ 恢复正常。见表 1。

表 1 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 及 PASP 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PaO ₂ (mmHg)			PaO ₂ /FiO ₂			PASP(mmHg)		
		生后 1 d	生后 3d	生后 7d	生后 1 d	生后 3d	生后 7 d	生后 1 d	生后 3 d	生后 7 d
对照组	22	82 $\pm$ 10	81 $\pm$ 11	84 $\pm$ 7	390 $\pm$ 18	390 $\pm$ 23	404 $\pm$ 14	25 $\pm$ 8	25 $\pm$ 11	22 $\pm$ 6
轻度 HPH 组	29	61 $\pm$ 13 ^a	76 $\pm$ 10	80 $\pm$ 11	212 $\pm$ 25 ^a	366 $\pm$ 33	385 $\pm$ 29	47 $\pm$ 7 ^a	46 $\pm$ 7 ^a	24 $\pm$ 4
中度 HPH 组	25	45 $\pm$ 14 ^{a,d}	80 $\pm$ 6	82 $\pm$ 10	98 $\pm$ 30 ^{a,d}	380 $\pm$ 27	382 $\pm$ 38	61 $\pm$ 7 ^{a,d}	64 $\pm$ 9 ^{a,d}	28 $\pm$ 7
重度 HPH 组	21	40 $\pm$ 12 ^{a,c,e}	55 $\pm$ 9 ^{a,d,e}	79 $\pm$ 9	66 $\pm$ 28 ^{a,c,e}	156 $\pm$ 25 ^{a,d,e}	370 $\pm$ 20	81 $\pm$ 12 ^{a,c,e}	82 $\pm$ 7 ^{a,c,e}	43 $\pm$ 9 ^{b,d,e}
F 值		35.02	25.65	3.35	262.13	77.81	2.37	34.28	37.25	4.43
P 值		<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	<0.05

与对照组相比, a: $P < 0.01$; b: $P < 0.05$; 与轻度组相比, c: $P < 0.01$; d: $P < 0.05$; e: 与中度组相比, $P < 0.05$

2.2 血清 HIF-1 α 、iNOS 及 ET-1 水平比较

本研究发现, 生后第 1 天, HPH 组血清 HIF-1 α 、ET-1 较对照组升高($P < 0.01$), 而且随着 HPH 程度的加重, HIF-1 α 和 ET-1 逐渐增高($P < 0.05$)。中、重度 HPH 组血清 iNOS 较对照组升高($P < 0.01$), 其中重度 HPH 组高于中度组($P < 0.05$)。生后第 3

天时, 重度 HPH 组血清 HIF-1 α 、ET-1、iNOS, 中度组血清 ET-1 较对照组升高($P < 0.05$), 其中重度组血清 ET-1 高于中度组($P < 0.05$), 中度组高于轻度组($P < 0.05$)。生后第 7 天时, 重度组血清 ET-1 较对照组及轻、中度 HPH 组升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 血清 HIF-1α、iNOS、ET-1 水平比较 (x̄±s)

组别	例数	HIF-1α (pg/mL)			ET-1 (pg/mL)			iNOS (U/L)		
		生后 1 d	生后 3 d	生后 7 d	生后 1 d	生后 3 d	生后 7 d	生后 1 d	生后 3 d	生后 7 d
对照组	22	283 ± 40	241 ± 31	224 ± 37	44 ± 7	40 ± 11	32 ± 14	21 ± 13	17 ± 9	19 ± 5
轻度 HPH 组	29	597 ± 75 ^a	276 ± 10	190 ± 41	90 ± 18 ^b	51 ± 13	46 ± 21	26 ± 11	23 ± 12	23 ± 8
中度 HPH 组	25	857 ± 107 ^{a,d}	280 ± 61	242 ± 80	208 ± 32 ^{a,d}	180 ± 27 ^{a,d}	58 ± 17	42 ± 17 ^b	27 ± 14	21 ± 9
重度 HPH 组	21	1 040 ± 212 ^{a,c,e}	855 ± 94 ^{a,d,e}	278 ± 79	370 ± 41 ^{a,c,e}	343 ± 24 ^{a,c,e}	114 ± 31 ^{a,c,e}	68 ± 12 ^a	58 ± 10 ^a	22 ± 8
F 值		31.76	21.37	5.78	28.45	24.43	4.73	35.02	25.65	3.35
P 值		<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05

与对照组相比, a: P < 0.01; b: P < 0.05; 与轻度组相比; c: P < 0.01; d: P < 0.05; e: 与中度组相比, P < 0.05

3 讨论

新生儿急性肺动脉高压可以由多种缺氧性疾病引起,在临床上并不少见,一旦发展为 PPHN 则预后差,危及生命。本研究发现 HPH 组新生儿生后第 1 天 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 降低,均存在低氧血症,PASP 升高,提示缺氧是促进 HPH 形成的重要因素。动态监测发现轻、中度 HPH 组第 3 天 PaO₂、PaO₂/FiO₂ 恢复,PASP 到第 7 天恢复。提示肺动脉压升高为缺氧引起的肺血管痉挛,还未发生肺血管重建,及时治疗可恢复。同时也说明缺氧症状恢复快,PASP 恢复慢,临床上不能仅依据缺氧改善而停止降肺动脉压的相应治疗。

有机体在各种生理和病理情况下对于低氧的适应是一个重要的生理功能,哺乳动物细胞对低氧的适应性调节是通过改变一系列基因表达来实现的,目前发现调控这些基因表达最重要的转录因子是 HIF-1α^[7]。研究证实缺氧时 HIF-1α、HIF-2α 和 HIF-1β mRNA 的表达在肺组织中增加^[8]。He 等^[2]发现大鼠经 3 周缺氧形成肺动脉高压模型后,肺中 HIF-1α mRNA 水平明显增高。本研究显示 HPH 组受围产期缺氧影响,血清 HIF-1α 生后第 1 天明显增高。随缺氧缓解,HIF-1α 及 PASP 逐渐下降,第 3 天时轻、中度组、第 7 天时重度组缺氧改善,HIF-1α 恢复,HIF-1α 和缺氧改善同步,但 PASP 恢复相对滞后。

有研究表明新生儿 HPH 与 ET-1 和 NO 密切相关。ET-1 是迄今为止所发现的作用最强的内源性血管收缩因子,肺部是 ET-1 作用和代谢的最重要脏器^[9]。缺氧时肺血管内皮受损,ET-1 基因表达及释放增强,通过与肺血管平滑肌上的 ET-1-A 受体结合及直接和间接促进血管内皮生长因子(VEGF)的合成与分泌使肺血管收缩及重建,肺动脉压升高。本研究发现,生后第 1 天时 HPH 组血清 ET-1 升高。随缺氧缓解,ET-1 及 PASP 下降。轻度组第 3 天

ET-1 恢复,PASP 仍高;中度组第 7 天 ET-1 及 PASP 恢复;重度组第 7 天 ET-1 及 PASP 未恢复。ET-1 和 PASP 改善基本同步,故 ET-1 和 PASP 关系密切。推测原因:轻度组随缺氧纠正,ET-1 释放减少,很快恢复,但 PASP 除受 ET-1 影响外,还可能受到其他缩血管因子的调节而未恢复;中度 HPH 组患儿虽缺氧纠正,但血管内皮细胞损伤功能障碍未恢复,ET-1 仍异常释放,其强烈缩血管作用使肺小动脉持续痉挛,PASP 升高;同样原因致生后 7 d 重度组 ET-1 水平及 PASP 持续升高,说明 ET-1 在 HPH 的发病中起着重要作用。

NO 具有强烈扩血管效应,iNOS 是内源性 NO 生成限速酶,在缺氧等病理情况下 iNOS 活性增加,启动 NO 的释放。Hu 等^[10]发现缺氧可诱导 iNOS 的活性及其 mRNA 的表达,引起延迟的、持续 NO 释放增加,产生氧自由基,损伤细胞及血管内皮,血管收缩,促进 HPH 发生发展。本研究显示 HPH 组血清 iNOS 变化与 ET-1 有不同之处:轻度组无明显改变,中、重度组生后第 1 天升高,生后第 3 天中度组、第 7 天重度组恢复,和 HIF-1α 及缺氧恢复同步。推测原因为相对 ET-1 而言,iNOS 可能对缺氧的敏感性较弱,只有在缺氧较严重时才表现增高。但其对缺氧改善却非常敏感。

另有研究表明 iNOS 和 ET-1 基因表达调控区有 HIF-1α 结合位点。敖启林等^[11]研究发现,ET-1 基因启动子区有 HIF-1α 的结合位点,低氧可以通过诱导 HIF-1α 的产生而调节 ET-1 基因的表达。动物实验证实 HPH 大鼠肺组织中 HIF-1α 对 iNOS 有转录激活作用,使其表达及 NO 产生释放增加,而 iNOS 及 NO 对 HIF-1α 表达有抑制作用^[12]。本研究显示缺氧 PASP 升高的同时血清 HIF-1α、ET-1、iNOS 升高,推测缺氧可使 HIF-1α 表达增强,引起其靶基因 ET-1 及 iNOS 表达增强,影响 ET-1 与 NO,肺动脉压升高。

在 HPH 形成过程中,还有很多低氧反应基因也可能参与其发生、发展,如血红素氧合酶、血管内皮

生长因子等。这些基因的表达调控还需要进一步研究,这也将有助于为HPH防治提供新的途径。

[参 考 文 献]

[1] 李玖军,韩晓蕾,魏克伦. 新生儿呼吸窘迫综合征肺动脉压力动态变化及其与血清内皮素-1 和一氧化氮关系的研究[J]. 中华儿科杂志, 2001, 39(11):678-681.

[2] He ZH, Dai AG, Zhang XF, Tan XW. Expressions of hypoxia inducible factor-1 alpha and inducible nitric oxide synthase gene in the development of hypoxic pulmonary hypertension in rats[J]. Clin Rehab Tissue Eng Res, 2007,11(36):7290-7294.

[3] McQuillan BM, Picard MH, Leavitt M, Weyman AE. Clinical correlates and reference intervals for pulmonary artery systolic pressure among echocardiographically normal subjects[J]. Circulation, 2001,104(23):2797-2802.

[4] Simonneau G, Galie N, Rubin LJ, Langleben D, Seeger W, Domenighetti G, et al. Clinical classification of pulmonary hypertension[J]. J Am Coll Cardiol, 2004, 43(12 Suppl S): 5S-12S.

[5] Stephen B, Dalal P, Berger M, Schweitaer P, Hecht S. Noninvasive estimation of pulmonary artery diastolic pressure in patients with tricuspid regurgitation by Doppler echocardiography[J]. Chest, 1999, 116(1):73-77.

[6] Abbas AE, Fortuin FD, Schiller NB, Appleton CP, Moreno CA,

Lester SJ. Echocardiographic determination of mean pulmonary artery pressure[J]. Am J Cardiol, 2003, 92(11):1373-1376.

[7] Ruas JL, Lendahl U, Poellinger L. Modulation of vascular gene expression by hypoxia[J]. Curr Opin Lipidol, 2007,18(5):508-514.

[8] Rajatapiti P, van der Horst IW, de Rooij JD, Tran MG, Maxwell PH, Tibboel D, et al. Expression of hypoxia-inducible factors in normal human lung development[J]. Pediatr Dev Pathol, 2008, 11(3):193-199.

[9] Schindler MB, Hislop AA, Haworth SG. Porcine pulmonary artery and bronchial responses to endothelin-1 and norepinephrine on recovery from hypoxic pulmonary hypertension[J]. Pediatr Res, 2006, 60(1):71-76.

[10] Hu R, Dai A, Tan S. Hypoxia-inducible factor 1 alpha upregulates the expression of inducible nitric oxide synthase gene in pulmonary arteries of hypoxic rat[J]. Chin Med J(Engl), 2002, 115(12):1833-1837.

[11] 敖启林,郝春荣,熊密,王迪浔. 低氧诱导因子-1 α 和内皮素-1 基因在大鼠低氧性肺动脉高压中的表达[J]. 中华病理学杂志, 2002, 31(2):140-142.

[12] Jung F, Palmer LA, Zhou N, Johns RA. Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes[J]. Circ Res, 2000, 86(3):319-325.

(本文编辑:王庆红)

· 消息 ·

欢迎订阅 2011 年《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊,北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威检索机构美国MEDLINE、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊。同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、专家讲座、综述等栏目。本刊也发表国外专家来稿,附有详细的中文摘要。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊,每月15日出版,向国内外公开发行人。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价12元,全年144元。邮发代号:国内42-188;国外3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免收审稿费。审稿周期4~6周。欲浏览本刊或投稿,请登录本刊网站。网站提供免费全文下载。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008
电话:0731-84327402 传真:0731-84327922 Email:ddek7402@163.com
网址: [http:// www. cjcp. org](http://www.cjcp.org)