

文章编号:1005-6947(2005)06-0457-03

· 综述 ·

# 一氧化氮与诱导型一氧化氮合酶在腹主动脉瘤形成中的作用

刘勇 综述 何延政 审校

(泸州医学院附属医院 血管外科, 四川 泸州 646000)

**摘要:**细胞外基质合成与代谢以及中膜平滑肌细胞增殖与凋亡失衡是腹主动脉瘤(AAA)形成的重要因素。一氧化氮(NO)和诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)在对细胞外基质的合成与代谢,中膜平滑肌细胞的增殖与凋亡之间的平衡,以及对细胞因子、生长因子和某些细胞生物学行为的调节在AAA的形成和发展中起着重要作用。本文对近年来上述信息作一综述。

**关键词:** 主动脉瘤; 腹; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 平滑肌细胞; 综述文献

**中图分类号:** R543.16; R44

**文献标识码:** A

腹主动脉瘤(abdominal aortic an

eurysm, AAA)是在动脉粥样硬化的基础上发生的最常见的主动脉扩张性病

变,65岁以上人群发生率约9%。20世纪50年代以来出现的主动脉重建和90年代出现的腔内隔绝术使AAA的治疗有了很大的进展。但本病的触发因素以及持续扩张直至破裂的控制因素仍未清楚。广泛的基础和临床研究显示:腹主动脉瘤壁的细胞外基质合成与降解以及中膜平滑肌细胞的增

**基金项目:**四川省卫生厅科研基金资助项目(030075);四川省教委重点课题资助项目(2003A064)。

**收稿日期:**2004-05-13;

**修订日期:**2005-03-16。

**作者简介:**刘勇(1974-),男,湖北红安人,泸州医学院附属医院主治医师,主要从事周围血管外科基础与临床方面的研究。

**通讯作者:**刘勇 电话:0830-2392712-6072, 13568636866(手机); E-mail:lyong74@163.com。

殖与凋亡失衡是其形成和发展的关键之一<sup>[1]</sup>。而近年来的研究显示一氧化氮(nitric oxide, NO)和诱导型一氧化氮合成酶(inducible NO synthase, iNOS)在多个层面上影响了这两者的平衡,在AAA的发生发展中起一定作用。本文就NO和一氧化氮合酶(NOS)的分类与功能,NO与细胞因子的相互作用及NO, iNOS与腹主动脉瘤的临床病理联系作一综述。

esis and endotoxaemia after extend ed hepatectomy in dogs [J]. J Gastroenterol Hepatol, 1997, 12 (9-10): 633-638.

[22] Ozeki Y, Umamoto T, Tateyama K, et al. Partial portal arterializa-tion for dearterialized liver after hepatectomy [J]. Br J Surg, 1997, 84(7): 1011.

[23] Erhard J, Lunge R, Giebier R, et al. Arterialization of the portal vein in orthotopic and auxiliary live transplantation. A report of three cases [J]. Transplantation, 1995, 60(8): 877-879.

[24] Aldrete JS, Soyer MT, Han SY.

Long term effects of arterialization of the portal vein stump in dogs with Eck's fistula [J]. Br J Surg, 1981, 68(9): 656-660.

[25] Adamons RJ, Butt K, Iyer S, et al. Portacaval shunt with arterial-ization of the portal vein by means of a low flow arteriovenous fistula [J]. Surg Gynecol Obstet, 1978, 146(6): 869-876.

[26] Muller V, Ott R, Tannapfel A, et al. Arterialization of the portal vein in liver transplantation: a new microsurgical model in the rat [J]. Transplantation, 2001, 71

(7): 997-998.

[27] 陈永亮, 黄晓强, 黄志强, 等. 门静脉动脉化对实验性梗阻性黄疸大鼠肝脏微血管的影响[J]. 中华外科杂志, 2001, 39(9): 713.

[28] 陈永亮, 黄志强, 黄洁, 等. 梗阻性黄疸大鼠行门静脉动脉化后肝脏血流量变化的实验研究[J]. 军医进修学院学报, 2001, 22(1): 42.

[29] 陈永亮, 黄志强, 赵建更, 等. 部分门静脉动脉化重建肝血流的实验研究[J]. 中华普通外科杂志, 2002, 17(5): 289-290.

## 1 NO 和 NOS 的分类和功能

人体内 NO 来源有二。一为非酶生 (non-enzymstigenese), 来自体表或摄入的无机氮的化学降解/转化; 一为酶生 (enzymstigenese), 由 NOS 所合成。NO 既是一种有细胞毒性效应器作用的分子、组织损伤的诱发因子和各种病变的增强因子, 又是生物体许多部分的信号分子和先天性免疫应答的调节性效应分子<sup>[2]</sup>。NOS 分为原生型 (cNOS) 和诱生型 (iNOS)。前者分神经型 (nNOS) 和内皮型 (eNOS), 是  $\text{Ca}^{2+}$ /钙调蛋白依赖的, 只有在细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平增高时才有活性, 其合成的 NO 在维持神经细胞的效应传递功能和血管舒缩功能, 保证血管扩张、血液供应上很重要, 但其 NO 合成持续时间短 (数秒至数分)、水平低。后者是非  $\text{Ca}^{2+}$ /钙调蛋白依赖的, 在转录水平调节, 其活性需要新的 mRNA 和蛋白合成, 酶活性可保持较长时间 (数小时至数天), 可在多种细胞中表达, 如炎症中性粒细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、心肌细胞等。这种持续产生的和短暂合成的 NO 在病理生理上意义不同; 很多研究证明它与炎症、肿瘤、退行性变、自身免疫性疾病等有关<sup>[3]</sup>。

## 2 NO 与细胞因子之间的相互调节

### 2.1 细胞因子对 NO 的影响

巨噬细胞、内皮细胞等在未受到致炎因子刺激时不表达 iNOS, 也无诱生型 NO 的合成, 但 iNOS 在许多致炎因子的作用下可诱导表达。干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 是一个有力的诱导剂, 肿瘤坏死因子- $\gamma$  (TNF- $\gamma$ )、白细胞介素-1 (IL-1) 和脂多糖 (LPS) 可以增强其刺激作用, 其他介质如糖皮质激素、巨噬细胞去活化因子、转录生长因子- $\beta$ 、血小板生长因子、上皮生长因子、IL-4 和 IL-10 等则抑制 iNOS 的产生。

人巨噬细胞产生 iNOS 较啮齿动物难, 人单核细胞经 LPS 和 IFN- $\gamma$  共刺激后可引起 iNOS mRNA 的表达和蛋白生成的增加, 但由于 NO 的过量可导致辅助因子四氢叶酸缺乏而使 NO 及其代谢产

物的进一步产生受限。Th1 细胞 (辅助性 T 淋巴细胞 1) 可以合成和分泌 IL-2, TNF- $\gamma$  等, 它们刺激巨噬细胞 NO 的合成。Th2 (辅助性 T 淋巴细胞 2) 细胞可以分泌 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 等, 而 IL-4, IL-10 可下调巨噬细胞 iNOS 的表达, 使 NO 的产生减少, 并可抑制 Th1 细胞分泌 TNF- $\gamma$ <sup>[4]</sup>。细胞因子可调节巨噬细胞 NO 的产生及 Th1/Th2 细胞间的平衡, 后者的平衡失调决定了炎症和自身免疫反应的结局。NO 则参与了这一平衡的调节。

### 2.2 NO 对细胞因子的影响

NO 在生理情况下作为一种信使可调节机体多种功能, 在病理情况下则诱导巨噬细胞等多种细胞的 iNOS 表达, 产生过量 NO, 形成大量  $\text{O}_2^-$  及氮氧化合物; 其中毒性较大的是 ONOO $^-$ , 它们具有直接的细胞毒性作用。袁益明等<sup>[5]</sup>发现, NO 使哮喘大鼠 MMP-2 (基质金属蛋白酶-2) 蛋白和 MMP-2 mRNA 增加, 而 TIMP (金属蛋白酶组织抑制物) 却无变化。因此认为 NO 影响了 MMP-2 的表达, 改变了 MMP-2/TIMP 的平衡。此外, NO 对细胞凋亡也有影响, 无论是外源性还是细胞因子诱导 iNOS 生成后合成释放的 NO, 均能有效地诱导多种细胞凋亡。其机制可能是 NO 诱导了 p53 基因表达。

## 3 NO, iNOS 与 AAA 的临床病理关系

### 3.1 iNOS 在 AAA 的表达及定位

Zhang 等<sup>[6]</sup>对 25 例 AAA 和 11 例正常腹主动脉组织行 iNOS 原位杂交和免疫组化检查显示: 在动脉壁的外膜和中膜 iNOS 蛋白和 mRNA 表达强阳性, 主要阳性细胞是 T, B 淋巴细胞, 巨噬细胞和平滑肌细胞。Zhang 还应用免疫印迹法发现平滑肌细胞和巨噬细胞内硝基酪氨酸阳性, 而正常腹主动脉未见上述变化。Johanning 等<sup>[7]</sup>对猪胰弹性蛋白酶灌注大鼠 AAA 的研究显示: 在 AAA 模型中血清 NO 含量显著增高, AAA 外膜和中膜 iNOS 蛋白有高水平表达; 应用 iNOS 特异性抑制剂 (aminoguanidine, 氨基胍) 能抑制 AAA 的扩张<sup>[8]</sup>。Fukuda 等<sup>[9]</sup>对大鼠颈动脉瘤模型的研究也

获得了同样结果<sup>[9]</sup>。上述结果均提示: NO 及 iNOS 在 AAA 的形成中可能有重要作用。但其作用机制尚不明了。

### 3.2 NO 和 iNOS 与细胞外基质代谢

AAA 的形成是动脉壁细胞外基质 (ECM) 合成与降解平衡被诸多因素破坏后造成的病理性腹主动脉重建过程。ECM 的降解过程受许多蛋白水解酶及其抑制剂调控。其中最重要的是基质金属蛋白酶及其抑制剂系统 (MMP/TIMP), MMPs 几乎能降解除多糖以外的全部 ECM 成分, 并能使别的 MMPs 激活形成瀑布效应<sup>[10]</sup>。Upchurch<sup>[11]</sup> 等发现, 血管局部 NO 的变化可影响 MMP 的表达及活性, 参与血管壁的损伤。有研究报道, NO 可增加 MMP-2 的表达并激活酶活性, 并可通过干扰细胞的氧化还原状态而改变转录因子的活性, 直接影响基因的表达; 其可能的转录因子是活化蛋白 1 (AP-1) 与核因子 KB (NF-KB)<sup>[12]</sup>。此外, 过量的 NO 表达, 形成大量  $\text{O}_2^-$  及氮氧化合物, 能介导细胞毒作用从而直接影响细胞外基质的代谢。

### 3.3 NO 和 iNOS 与平滑肌细胞的凋亡

组织学研究显示: AAA 组织中平滑肌细胞 (SMC) 减少, 而动脉中膜的弹力蛋白主要由 SMC 合成, 故可认为 SMC 的减少导致修复能力减弱与 AAA 的形成有关。人体 AAA 组织中 SMC 的减少是由 SMC 的凋亡过程引起的。Fukuo 等<sup>[13]</sup>的研究显示, NO 能诱导体外培养的血管平滑肌细胞的凋亡并出现 Fas 蛋白表达上调<sup>[14]</sup>。凋亡的发生可能与激活并上调了 Fas-FasL 系统, p53, p21 蛋白的表达有关<sup>[14]</sup>。

### 3.4 NO 和 iNOS 与腹主动脉瘤壁的慢性炎症

研究表明: AAA 是一个慢性炎症性疾病, 炎性细胞浸润的密度与弹力蛋白的破坏成正相关, 因而认为炎症可影响 ECM 的代谢。iNOS 与 NO 参与了这种慢性炎症的过程, 但机制不明。新近资料表明, 受累组织局部由 iNOS 合成的 NO 不仅简单地引起组织破坏, 也影响 Th1/Th2 细胞间的平衡。尤其非细胞毒 NO 对 Th1 型细胞因子如 IL-2 和

IFN- $\gamma$  起降调节作用,并且/或者增加 Th2 相关分子 IL-4 和 PGE2 的产量及 IL-4p40 基因的表达<sup>[15]</sup>。此外 NO 也可介导许多炎症介质的释放,如 TNF- $\alpha$ , IL-6 及 IL-1 $\beta$  等。它们可刺激 SMC 分泌 MMP-1, MMP-2, MMP-3 和 MMP-9, 而 TIMP-1 和 TIMP-2 在蛋白质和 mRNA 水平均没有增加,从而促进了 ECM 的降解。

#### 4 小 结

iNOS 及 NO 通过各种直接和间接的方式导致腹主动脉细胞外基质的代谢失衡,进而引起形成 AAA。目前对其确切机制和作用缺乏研究,但可能的机制可能有:(1) NO 的代谢产物如 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup>, 直接导致细胞外基质的降解;(2) 通过各种直接作用或激活其他细胞因子导致 MMP/TIMP 系统失衡;(3) 诱导腹主动脉中层平滑肌细胞凋亡;(4) 促发腹主动脉产生炎症,并使炎症迁延和分泌各种细胞因子,进而使动脉壁细胞外基质降解。研究显示多种药物如甲基强的松龙、环孢霉素、环氧化酶抑制剂及强力霉素等<sup>[16,17]</sup>, 均可通过抑制 NO 合成而抑制实验性 AAA 形成。有研究显示:广谱 NOS 抑制剂左旋精氨酸(L-NAME)和特异性 iNOS 抑制剂氨基胍均能抑制实验性大鼠 AAA 的形成。然而,由于 NO 涉及许多不同的重要生理功能,而目前大多数 NOS 抑制剂对原生型和诱生型 NOS 并无选择性,因此进一步探讨 iNOS 和 NO 在 AAA 形成的机制,并研制 NO 产生的选择性抑制剂将是改善 NOS 拮抗剂治疗功效和减少毒性的第一步<sup>[18]</sup>。目前尚无应用 NOS 抑制剂治疗 AAA 的临床报道。

#### 参 考 文 献:

[1] Li DY, Zhang Q, Che Y, *et al.* Effects of macrophage infiltration and related gene expression on the pathogenesis of early abdominal aortic aneurysm [J]. *Zhonghua Yixue Zazhi*,

2003, 83(18):1624-1627.

[2] Kroncke KD, Fehsel K, Kold-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human disease [J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 113(2):147-156.

[3] Kroncke KD, Fehsel K, Kold-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection, how, why, when, where? [J]. *NO Bio Chem*, 1997, 1(2):107-120.

[4] O'Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets [J]. *Immunity*, 1998, 8(3):275-283.

[5] 袁益明,王增礼,董碧蓉. 一氧化氮对哮喘大鼠基质金属蛋白酶的表达调控 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2002, 25(5):276-279.

[6] Zhang J, Schmidt J, Ryschich E, *et al.* Inducible nitric oxide synthase is present in human abdominal aneurysm and promotes oxidative vascular injury [J]. *J Vasc Surg*, 2003, 38(2):360-367.

[7] Jahanning JM, Armstrong PJ, Franklin DP, *et al.* Nitric oxide in experimental aneurysm formation: early events and consequences of Nitric oxide inhibition [J]. *Ann Vasc Surg*, 2002, 16(1):65-72.

[8] 刘勇,何延政,林美,等. 一氧化氮、诱导性一氧化氮合酶在实验性大鼠腹主动脉瘤中的作用 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2004, 7(6):337-339.

[9] Fukuda S, Hashimoto N, Naritomi H, *et al.* Prevention of rat cerebral aneurysm formation by inhibition of nitric oxide synthase [J]. *Circulation*, 2000, 101(21):2532-2538.

[10] 孟文,曹明智,曹洪明. 诱导性一氧化氮合酶与乳腺癌增殖和转移关系的研究 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13(5):378-380.

[11] Upchurch GR, Ford JW, Weiss SJ, *et al.* Nitric oxide inhibition increase matrix metalloproteinase-9 expression by rat aortic smooth muscle cells in vitro [J]. *J Vasc Surg*, 2001, 34(1):76-83.

[12] Eberhardt W, Beeg T, Beck KF, *et al.* Nitric oxide modulates expression of matrix metalloproteinase-9 in rat mesangial cells [J]. *Kidney int*, 2000, 57(1):59-69.

[13] Fukuo K, Iiata S, Suhara T, *et al.* Nitric oxide induce upregulation of Fas and apoptosis in vascular smooth muscle [J]. *Hypertension*, 1996, 27(Part 2):823-826.

[14] Satta J, Mennander A, Soini Y, *et al.* Increased medial Tunel-positive staining associated with apoptosis bodies is linked to smooth muscle cell diminution during evolution of abdominal aortic aneurysms [J]. *Ann Vasc Surg*, 2002, 16(4):462-466.

[15] Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in autoimmune disease: cytotoxic or regulatory mediator? [J]. *Immunol Today*, 1998, 19(12):556-561.

[16] Oriji GK, Keiser HR. Role of nitric oxide in cyclosporine A-induced hypertension [J]. *Hypertension*, 1998, 32(5):849-855.

[17] Berg J, Fellier H, Christopher T, *et al.* The analgesic NSAID lornoxicam inhibits cyclooxygenase (COX)-1/-2, inducible oxide synthase (iNOS), and the formation of interleukin (IL)-6 in vitro [J]. *Inflamm Res*, 1999, 48(7):369-379.

[18] Gerharz BD, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects [J]. *J Invest Dermatol*, 1998, 110(1):1-6.