

一氧化氮及其对心血管的作用

焦鸿莉 综述 杨和平 杨永宗 审校

(衡阳医学院分子生物学研究中心, 衡阳 421001)

摘要 本文介绍了一氧化氮的分布和生成代谢, 一氧化氮合成酶的结构、功能和调节, 一氧化氮的血管作用及其在病理生理条件下的差异性。众多文献资料表明, 一氧化氮在抗动脉粥样硬化损伤中可能起重要作用。

关键词 一氧化氮, 一氧化氮合成酶, 表达调节,

心血管作用

一氧化氮(nitric oxide, NO)是新近才发现的重要信使分子。最近在美国举行的 NO 专题讨论会上, 研究者们报道了 NO 不仅对血管内皮的松弛起决定性作用, 而且它还可作为一个细胞生长的调节剂。Baylor 医学院

的 Paul Vanhoutte 医学博士说,刺激 NO 产生的那些药有可能中止或防止动脉粥样硬化斑块的生长,在抗动脉粥样硬化损伤中起重要作用。

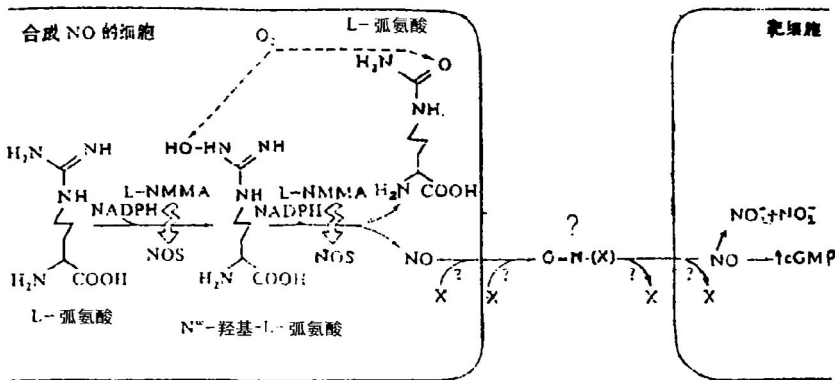
1 一氧化氮的分布及合成代谢

由于 NO 极不稳定,半衰期不足 5 s,目前尚不能对组织中的 NO 进行直接定位。而只有能够合成 NO 的细胞中才存在有一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOS),所以人们利用纯化的 NOS 制备抗血清,进行免疫细胞化学研究^[1],以确定 NOS 的存在部位。这样,即可通过 NOS 的定位来反映出 NO 的分布情况^[2]。随着反转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术应用于 RNA 分析,测出了不同组织中 NOS mRNA,证实了 NOS mRNA 广泛分布于中枢和一些外周组织中,在中枢以小脑含量最高;在外周组织中,肾脏含量最高,其次为心脏和肺脏。在心血管系统中广泛分布有 NOS mRNA,以内皮细胞

中含量最多。

一氧化氮合成酶是生成 NO 的限速因子。NOS 以 L-精氨酸和分子氧为底物,还原型辅酶 I (NADPH)作为辅助因子提供电子,使酶分子中的 FAS/FMN 还原, NOS 呈还原型,在钙调蛋白/ Ca^{2+} 和氧的协助下,使 L-精氨酸末端胍基的氮原子羟化,羟化的精氨酸紧密结合于 NOS 上,进一步被氧化成 L-瓜氨酸^[3]。

一氧化氮是一种自由基气体,带有不成对电子,化学性质非常活泼,能迅速与分子氧、超氧阴离子以及铁、铜、镁等发生反应。NO 有很强的亲脂性,极易透过生物膜。当 NO 到达靶细胞后可迅速与鸟苷酸环化酶(guanylyl cyclase, GC)上的 Fe^{2+} 结合,使 GC 三维结构发生变化,从而提高酶活性,促进三磷酸鸟苷环化而产生 cGMP, cGMP 再刺激 cGMP 依赖性蛋白激酶而发挥作用。NO 氧化的终末产物为硝酸盐(NO_3^-)和亚硝酸盐(NO_2^-)^[4,5]。NO 的合成与代谢途径见附图。



附图. NO 的合成与代谢途径.

分子氧(O_2)掺入 NO 和 L-瓜氨酸中, L-NHMA 为 NOS 抑制剂, X 代表 NO 假定的载体分子^[6]。

2 一氧化氮合成酶的结构、功能与调节

2.1 组成型一氧化氮合成酶和诱导型一氧化氮合成酶的差别

一氧化氮合成酶已被纯化,它在不同组织中的活性存在差异^[7],目前发现至少有两种同工酶:组成型 NOS (cNOS)和诱导型 NOS (iNOS)。分别从脑血管内皮及巨噬细胞中提出的 cNOS 及 iNOS 均已被克隆和测序。cNOS 和 iNOS 在分布、激活方式、作用形式和钙调蛋白/ Ca^{2+} 依赖性等方面有着明显的差别(表 1)。

2.2 诱导型一氧化氮合成酶同源性的研究

研究表明, iNOS 在 NO 的心血管药理作用中起主要作用。表 2 为同种动物在不同细胞间 iNOS 同源性的

比较。可见,单就一种动物而言,在基因水平只存在一种 iNOS,并且它不同于 cNOS。不同动物间的比较显示,鼠及人 cDNA 编码 iNOS 的氨基酸之间存在 80%~81% 的同源性,较这两种动物 cNOS 的同源性低(鼠与人脑型 cNOS 间的同源性为 93%),但就基因水平而言,目前仍倾向于在不同动物只存在一种 iNOS 的观点。

2.3 诱导型一氧化氮合成酶表达的差异性

如上所述,所有动物在基因水平上只有一种形式的 iNOS。然而,基因水平相同,并不意味着不同细胞中的 iNOS 完全一样,因为 iNOS 的表达存在差异性。编码 iNOS 的 cDNA 表达产物具有酶活性,但与 Ca^{2+} 及钙调蛋白关系相对复杂(表 3)。这种差异既可能源于各细胞

iNOS 间确实存在差异(由基因剪接、蛋白修饰过程造成),也可能是各研究者提取 iNOS 方法不同,而酶的提 取过程对活性是有影响的。提示 iNOS 可能是 Ca^{2+} 及钙调蛋白部分依赖性的^[9]。

表 1. 组成型和诱生型一氧化氮合成酶的比较

| | 诱生型一氧化氮合成酶 | 组成型一氧化氮合成酶 |
|----------------------------|---|--|
| 存在及激活方式 | 并不存在于细胞内,只有内毒素和(或)细胞因子诱导生成,涉及基因转录蛋白合成等过程,故需诱导数小时 | 以静止态存在于细胞中,可被相应的激动剂迅速激活 |
| 酶活力持续时间 | 诱导生成后酶活力持续时间长 | 激活后酶活力持续时间很短 |
| 作用形式 | 二聚体 | 单体 |
| 钙调蛋白/ Ca^{2+} 依赖性 | 与钙调蛋白/ Ca^{2+} 关系较复杂,可能是部分依赖性的。iNOS 虽然有钙调蛋白的识别位点,但与 cNOS 该位点的同源性低,不同细胞来源的 iNOS 该位点的同源性低,不同细胞来源的 iNOS 钙调蛋白位点彼此也存在差异 | cNOS 活力完全依赖钙调蛋白/ Ca^{2+} |
| 分布 | 巨噬细胞,血管平滑细胞,肝细胞,内皮细胞,神经细胞等存在于胞浆 | 脑、血管内皮细胞血小板,脑型 cNOS 均分布于胞浆,而内皮型 cNOS 主要存在于细胞提取物的颗粒部分,提其为膜结合蛋白。 |

表 2. 诱生型一氧化氮合成酶同源性的比较

| | 鼠 | | 人 | |
|------------------|----------|----------|-------------|-------|
| | 巨噬细胞 | 平滑肌细胞 | 巨噬细胞 | 平滑肌细胞 |
| cDNA 阅读框 | 3 432 bp | 3 441 bp | 均为 3 459 bp | |
| 组成氨基酸数 | 1 144 | 1 147 | 均为 1 153 | |
| 分子量 | 130 kDa | 131 kDa | 均为 131 kDa | |
| 氨基酸同源性 | 93% | 99% | | |
| 与脑型 cNOS 氨基酸同源性 | 46%~51% | 51%~52% | | |
| 与内皮型 cNOS 氨基酸同源性 | 54%~58% | | | |

表 3. Ca^{2+} 及钙调蛋白与诱生型一氧化氮合成酶活性的关系

| | EDTA | EGTA | R24571 |
|-------|----------------------------|--|--------|
| 鼠单核细胞 | 不抑制 | 抑制(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 可纠正) | 抑制 |
| 人软骨细胞 | / | 不抑制 | 不抑制 |
| 人肝细胞 | 抑制(Ca^{2+} 不能纠正) | 抑制(Ca^{2+} 不能纠正) | / |

注: EDTA 与 EGTA 为钙离子结合剂, R24571 为钙离子拮抗剂

2.4 一氧化氮合成酶的一级结构和功能区分析

从氨基端到羧基端,由 cDNA 编码的 NOS 依次存在钙调蛋白、FMN、FAD、NADPH 识别序列。后三种因子在 NOS 催化过程中起传递电子作用,是酶活性不可缺少的。在中间靠近氨基端的近 300 多个氨基酸保守程度高,被认为是 NOS 作用底物 L-精氨酸的识别位点。

在 725~745 位有一个钙调蛋白结合位点,在 473 位有一段 cAMP 依赖性蛋白激酶磷酸化序列。在 1 204~1 429 之间有两个 NADPH 结合位点,一个在 1 245~1 263 之间对应于核苷酸,另一个在 1 343~1 358 之间对应于腺嘌呤。在此氨基酸序列上有两个 FAD 识别位点:分别对应于焦磷酸、异咯嗪两个基团。另外还可能有血

红素识别序列^[7]。

2.5 一氧化氮合成酶基因表达的调节

2.5.1 L-精氨酸和一氧化氮 由于L-精氨酸为NO合成的唯一的生理供氮者,这种氨基酸的代谢可能在NO合成的调节中起重要的作用^[10]。Provost^[11]用L-精氨酸预处理完整的猪主动脉内皮,发现被标记的中性粒细胞粘附降低了32%,用L-NAME可以拮抗这种作用。Wallace等^[12]在家兔单侧髂动脉球囊血管成形术后,在饮食中补充L-精氨酸,四周后发现L-精氨酸组内依赖性松弛并伴有内膜增生的显著减轻。以上实验提示,应用L-精氨酸可诱导NOS激活,促进NO生成,从而发挥抑制白细胞粘附及抑制内膜增殖的作用。

Griscavage等^[13]通过³H-L-精氨酸反应生成³H-L-胍氨酸表示NOS活性,研究鼠巨噬细胞iNOS是否可被NO调节。实验表明NO抑制iNOS活性,这种抑制效应可被超氧化物歧化酶增强,被氧合血红蛋白削弱。NO的氧化产物硝酸盐及亚硝酸盐以及L-胍氨酸对NOS活性无明显影响。NO对NOS的抑制作用可部分被氧合血红蛋白逆转。NO的抑制作用可被其它血红素配体如一氧化碳、氰化物等模拟。提示NO通过干扰酶结合血红素对iNOS起负反馈调节因子的功能。

2.5.2 Ca^{2+} NOS氨基酸序列上已被证实有钙调蛋白结合位点。Mayer等^[14]实验证实,鼠脑突触膜NOS以 Ca^{2+} 浓度依赖性方式使NOS激活生成NO和L-胍氨酸。然而,在NOS活化所需的 Ca^{2+} 浓度,cGMP形成被明显抑制,提示为产生的下调信号。 Ca^{2+} 对cGMP水解及GC活性的作用几乎完全可被钙调蛋白拮抗剂calmidazolium破坏,增加钙调蛋白可减弱这种作用。这样,一种 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性cGMP磷酸二酯酶在脑突触区域高度活化可能避免细胞内cGMP水平在活化的、产生NO的神经元中升高。

2.5.3 慢性运动 Sessa等^[15]以慢性运动的狗为实验对象,观察慢性运动对NO产生的影响(以氧化产物亚硝酸盐为指标)以及对狗血管内皮细胞NOS基因表达的影响。在对照组和运动组乙酰胆碱剂量依从性地增加冠状动脉和微血管中亚硝酸盐的释放。而且,慢性运动的狗心脏大冠状动脉及微血管中乙酰胆碱刺激产生的亚硝酸盐比对照组显著增加。这种增加的可能机制为 Ca^{2+} 依赖性内皮细胞NOS基因的诱导。这一发现提示运动可以提供增加NO产生的刺激,为运动有利于心血管系统的可能原因。

2.5.4 缺氧(hypoxia) McQuillan等^[16]报道缺氧可显著抑制NO的产生,他们将人内皮细胞暴露于低氧分压中,测到内皮cNOS mRNA水平下降40%~60%。抑

制效应产生于低氧后24 h,持续至少48 h,并阐明缺氧通过转录及转录后机制抑制内皮NOS表达。

2.5.5 糖皮质激素 O'Connor等^[17]在腺癌细胞中以脂蛋白诱导产生NO(NO的量通过其氧化产物亚硝酸盐检测),证实NO合成的诱导可被糖皮质激素地塞米松及氢化考的松以浓度依从性方式抑制,这种效应可被黄体酮部分拮抗。Radomski等^[18]实验发现糖皮质激素抑制iNOS的表达,而不抑制cNOS的表达。氢化考的松及地塞米松抑制iNOS的表达,而不直接影响酶活性。证实糖皮质激素对iNOS的抑制是一个涉及mRNA合成抑制的受体介导的过程。

2.5.6 细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 脂多糖是巨噬细胞最有效的刺激物之一,LPS的活性主要由分子的脂质A区(lipid region)决定。许多涉及NO的研究往往以LPS单独应用或配合r干扰素及肿瘤坏死因子作为诱导NO产生的手段。Severn等^[19]用LPS(单独应用或联合应用r干扰素)刺激鼠巨噬细胞由L-Arg生成NO。他们将巨噬细胞卵育于低浓度的LPS中,然后用高浓度的LPS刺激,结果观察到生成较少的NO及表达低水平的NOS活性。以低浓度LPS预处理的巨噬细胞产生NO减少是内毒素耐受的表现,可能代表了NO合成调节的一个重要途径及细胞内寄生虫存活的机制。

2.5.7 细胞因子(cytokine) 多种细胞因子参与了对NOS基因表达的调节。其中包括干扰素、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)以及白细胞介素(interleukin, IL)等。

干扰素是由多功能细胞因子组成的异源家族,其生物活性是诱导细胞对病毒感染产生抗性,对细胞生长的分化也发挥主要生物学功能。干扰素主要是一个免疫调节细胞因子,其生物学作用包括I型基因的表达、抑制细胞增殖和巨噬细胞的激活^[20]。而iNOS的产生是巨噬细胞激活的结果。As斑块内存在激活的T淋巴细胞,浸润T淋巴细胞附近的平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)可表达I型抗原HLA-DR^[21],提示干扰素与动脉SMC增殖有关。以后研究者观察到培养的SMC在加入干扰素后能表达I型抗原,干扰素能抑制IL-1、PDGF或TGF β 所诱导的SMC的增殖和胶原的合成,这一作用可能与其诱导合成的iNOS催化生成NO有关。 γ 干扰素还与SMC寡A合成酶的水平有关,因此可增加mRNA的降解。在体实验表明: γ 干扰素能抑制球囊导管损伤引起的动脉内膜增厚,能抑制喂养胆固醇家兔动脉粥样硬化的发展。注射T细胞特异抗体能增加内膜增生。上述实验说明 γ 干扰素在再狭窄和动脉粥样硬化

的防治中起重要作用。

肿瘤坏死因子- α 由单核/巨噬细胞产生,能诱导细胞提高表达 MHC I 型和 II 型抗原。实验表明单独应用 TNF- α 或配合 γ 干扰素或 LPS 能够诱导 NOS mRNA 表达^[22,23]。这种诱导效果与单核、巨噬细胞激活有关。

白细胞介素-1 在心血管系统中具有双重作用。IL-1 可促进血管内皮细胞表达粘附分子,增加白细胞与血管内皮细胞的粘附,诱导内皮细胞分泌 IL-2、IL-6 和 PG 等,引起炎症,参与血栓的形成。同时,许多实验证实了 IL-1 还可以剂量时间依赖性地刺激 NO 产生^[24],而 NO 产生后发挥强大的抗血栓形成的作用。在诱导 NO 产生的许多因素中,以 IL-1 诱导 NO 生成的作用最为显著^[25]。Cenei 等^[26]证实 IL-4 及 IL-10 抑制 NOS 的诱导。Hatzigeorgiou 等^[27]观察到预先应用 IL-6 可下调 TNF- α 及 γ 干扰素诱导 NO 的生成,表明 IL-6 对 NOS 的表达具有抑制作用。

此外,Hwang 等^[28]报道了 steopontin,这种在肾高水平表达的磷脂蛋白可抑制 NOS 的基因表达。Rojas 等^[29]报道了单核细胞趋化蛋白 1 可抑制 NO 的产生。许多影响 NOS 表达的因素正在被证实。

3 一氧化氮对心血管的作用

一氧化氮作为信使分子,在心血管系统中具有重要的生理和病理生理意义。NO 在维持血管张力的恒定和调节血压的稳定中起重要作用,能够抑制血小板的粘附和聚集,抑制白细胞的粘附和趋化性,抑制平滑肌细胞增殖。

3.1 一氧化氮在维持血管张力和调节血压中的作用

一氧化氮在动脉、微血管和静脉中均有舒张血管的作用^[30]。它能降低全身动脉压,控制全身各种血管床的静息张力,增加局部血流,如肾血流。内源性 NO、NO 合成酶及其抑制剂是一个调节血压的独立体系,与交感神经系统、肾素-血管紧张素系统、血管的加压素和前列腺素之间没有明显的关系。在不同的血管 NO 活性也不同,这可能是由于各类血管对 NO 释放的促进因素的敏感性不同。目前认为静脉的活性比动脉的低,这不仅是由于 NO 的基础释放量不同,更主要是因为血管对 NO 的反应性不同。

调节血管张力的 NO 不仅来源于血管内侧内皮细胞和平滑肌细胞;而且在血管的外膜,非肾上腺素能非胆碱能神经末梢也释放 NO。NO 舒血管效应的机制为:来自血管内侧和外侧两处不同方向的 NO,刺激平滑肌细胞内可溶性鸟苷酸环化酶,使细胞内 cGMP 水平增高,cGMP 抑制蛋白激酶 C 磷酸化作用,引起一系列生物效应:Ca²⁺ 内流减弱,内 Ca²⁺ 排出增多,造成细胞内

Ca²⁺ 浓度下降;同时收缩蛋白对 Ca²⁺ 敏感性降低,从而导致血管舒张^[31]。

3.2 一氧化氮抑制血小板粘附和聚集、抑制白细胞粘附和趋化性以及抑制平滑肌细胞增殖的作用

完整的内皮细胞可以抗血小板的粘附,抗血小板的粘附与内皮细胞分泌的前列环素(prostacyclin, PGI₂) 和 NO 的作用有关。NO 可以抑制 ADP、胶原酶、凝血酶等引起的血小板内 cGMP 的含量,cGMP 可抑制 Ca²⁺ 内流和贮存钙的动员。PGI₂ 抑制血小板的聚集是通过升高 cAMP 水平,cAMP 通过促进 Ca²⁺ 摄入到内质网系统调节 Ca²⁺ 水平。因而 PGI₂ 和 NO 抗血小板聚集可能都是通过干扰钙的利用实现的,它们具有协同抗血小板聚集的作用^[32]。

在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生过程中,单核细胞首先粘附在受损的内皮上并向内皮下迁移。在 As 和高胆固醇血症的动物内皮 NO 和 PGI₂ 释放受损。Bath 等^[33]证明 NO 在 $>10^5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时可以抑制单核细胞的自发性粘附。PGI₂ 不能抑制单核细胞的粘附,但在 $\text{NO} > 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\text{PGI}_2 > 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别可以抑制对单核细胞的趋化作用。目前还不能肯定 NO 和 PGI₂ 对单核细胞的作用是通过 cGMP 还是 cAMP 介导的。内皮细胞的 NO 可能在局部以高浓度存在或都在细胞之间迅速转移而发挥抗单核细胞粘附作用。Provost^[11]用 L-精氨酸预处理完整的猪主动脉内皮,发现中性粒细胞粘附性降低的实验表明:在动脉流体情况下,NO 可以减弱中性粒细胞和内皮的相互作用。

有实验发现产生 NO 的扩血管药物剂量依赖性地抑制血清诱导的 DNA 合成和鼠动脉平滑肌细胞的增殖^[12,34]。NO 抑制平滑肌细胞增殖是通过激活 GC 和升高细胞内 cGMP 的水平而起作用的。

3.3 一氧化氮参与自身调节

许多血管平滑肌细胞都具有内在的“肌源性反应”,即当器官血管的灌注压突然增高时,血管平滑肌受到牵张刺激而使肌源性活动——血管收缩进一步加强。这实际是一种正反馈现象,可导致血管处于一种潜在的不稳定状态。而生理状态下,器官血流量能维持相对稳定,这其中肯定存在一个与上述方向相反的正反馈机制,以平衡肌源性正反馈形成的不稳定状态。现在有人提出,NO 可能是起这种平衡作用的使者。因为血管应切力最大时,NO 的释放量也最高,这种正反馈机制相互之间作用的程度,决定了血管全身调节的水平^[31]。

3.4 一氧化氮在脑血流中的调节作用

一氧化氮参与了内皮细胞激动剂引起的血管舒张。Lee 在 1980 年首次发现了离体脑动脉中 NO 介导的血

管舒张,随后的离体实验又证实了脑内大动脉和软脑膜动脉对 Ach 的反应也是通过 NO 介导的。离体情况, NOS 抑制剂 N^G-甲基-L-精氨酸(L-NMMA)和 N^G-硝基-L-精氨酸(L-NNA)能抑制 SP 和 Ach 引起的内皮细胞依赖性血管舒张。在体的脑循环中也观察到 NO 介导的血管舒张反应,局部应用 Ach 能引起软脑膜动脉和基底动脉的舒张,且被 NOS 抑制剂抑制。Vincent 等发现由外周神经刺激引起皮层兴奋所导致的血流增加可被 NOS 抑制剂所抑制,并且这种抑制作用可被 L-精氨酸部分地逆转,提示 NO 也参与了外周神经刺激引起的局部皮层血流反应。内皮细胞激动剂在脑血管中的作用机制,有人认为与非脑血管中相同,是通过 L-精氨酸-NO-cGMP 途径。精氨酸类似物 L-NMMA 和 L-NNA 可选择性地抑制 NOS,从而抑制脑内大动脉对 Ach 和其它一系列内皮细胞激动剂的反应。

一氧化氮还参与基态(basal condition)下脑血管张力的维持。正常生理条件下,内皮细胞不断合成和释放 NO 使血管处于持续的舒张状态,而 NOS 抑制剂 L-NNA 和 L-NMMA 能引起内皮细胞依赖性血管收缩,使在体颈动脉、基底动脉和软脑膜动脉的直径变小,并且这种作用不能被过量的 L-精氨酸所逆转。有实验提示 NO 的基态释放可能参与维持灌注的作用。有人认为基态 NO 的合成和释放对脑内大动脉的影响要比对微循环动脉和软脑膜动脉的影响大。

3.5 一氧化氮对心脏的影响

研究表明,心脏内皮细胞也释放 NO,NO 通过缩短心缩期以调节心脏的生理功能。其作用机制可能是通过提高心室乳头肌中 GC 的活性,使得 cGMP 水平增高,因此依赖 cGMP 的蛋白激酶对心肌钙蛋白 I 的磷酸化作用得到加强,肌钙蛋白对 Ca²⁺的亲合性下降,从而引起心缩期缩短^[31]。

4 一氧化氮在病理、生理条件下的作用差异性

一氧化氮在病理条件下,参与巨噬细胞介导的细胞毒性反应。巨噬细胞包含一种与其它细胞不同的 NO 合成酶体系。该酶在内毒素、细胞激动剂(包括干扰素)以及一些肿瘤因子的作用下诱导激活而合成 NO^[36]。关于 NO 导致细胞和组织损伤的机制可能是。①与细胞内产生的 O₂ 相互作用,形成一种超氧亚硝酰化合物 ONOO⁻,ONOO⁻在碱性条件下相当稳定,一旦酸化,立即分解,半衰期仅为 1.9 s,分解的产物为更强的氧化剂(·OH + NO₂)。O₂ + NO · → ONOO⁻ + H⁺ → ONOOH → ·OH + NO₂ 从自由基分子毒理学的角度来看这一反应机理是非常有意义的。O₂ 和 NO· 都是自由基,但二者的氧化性都不很强,细胞毒性也不十分明

显,它们在体内都具备一定生物功能。二者结合以后生成 ONOO⁻阴离子,在略高于生理 pH 时(即碱性条件下),ONOO⁻相当稳定。在这种状态,允许它由生成位置扩散到较远的部位。一旦在低于生理 pH(即酸性)条件下(病理条件下往往如此)立即分解为·OH 和 NO₂·自由基,这两种自由基的氧化性都非常强,且具有很大的细胞毒性,这对于杀伤外来微生物和肿瘤细胞非常有益^[37]。②引起细胞核亚硝酸化,从而破坏 DNA 双螺旋结构。③抑制某些与细胞呼吸和 DNA 复制有关的关键酶的活性^[38]。有资料表明:nmol 水平的 NO 主要引起细胞毒作用,而 pmol 或 fmol 水平的 NO 则参与免疫及炎症过程的信息传递。

参考文献

- Bredt DS, Hwang PM, Synder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*, 1990, 347: 768~770.
- Bredt DS, Glatt CE, Hwang PM, et al. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron*, 1991, 7: 615~624.
- Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, et al. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 2 811~14.
- Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell*, 1992, 70(5): 705.
- Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mamalian cells. *FASEB J*, 1992, 6(12): 3 051.
- 张灵芝,谭敦勇,周爱儒. 组织细胞一氧化氮含量的测定的几种方法,生物化学与生物物理进展,1993, 20(6):413.
- Bredt DS, Hwang FM, Glatt CE, et al. Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resemble cytochrome P-450 reductase. *Nature*, 1991, 351:714~718.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991, 43(2): 109~134.
- 张登海. 诱生型 NOS 分子生物学进展. 国外医学分子生物学分册, 1995, 17(2): 55~58.
- Morris SM, Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol*, 1994, 266(1): 829~839.
- Provost D, Lam JYT, Lacoste L, et al. Endothelium-derived nitric oxide attenuates neutrophil adhesion to endothelium under arterial flow conditions. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14: 331~335.
- Wallace C, Rymond T, Makhod G. L-arginine improve

- endothelium-dependent vasorelaxation and reduces intimal hyperplasia after balloon angioplasty. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14: 938~943.
- 13 Griscavage JM, Rogers NE, Sherman MP, et al. Inducible nitric oxide synthase from a rat alveolar macrophage cell line is inhibited by nitric oxide. *J Immunol*, 1993, 151(11): 6329~37.
 - 14 Mayer B, Klatt P, Bohme E, et al. Regulation of neuronal nitric oxide and cyclic GMP formation by Ca^{2+} . *J Neurochem*, 1992, 59(6): 2024~29.
 - 15 Sessa WC, Pritchard K, Seyedi, et al. Chronic exercise in dogs increase coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res*, 1994, 74(2): 349~358.
 - 16 MuQuillan LP, Leuny GK. Hypoxia inhibits expression of cNOS via transcriptional and posttranscriptional mechanisms. *Am J Physiol*, 1994, 267(5 pt 2): H1921~27.
 - 17 O'Connor KJ, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the induction of nitric oxide synthase and the related cell damage in adenocarcinoma cells. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1097(3): 227~231.
 - 18 Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(24): 10043~47.
 - 19 Severn A, Xu D, Doyle J, et al. Pre-exposure of murine macrophages to lipopolysaccharide inhibits the induction of nitric oxide synthase. *Eur J Immunol*, 1993, 23(7): 1711~14.
 - 20 Trinchieri G, Perussia B. Immune interferon a pleiotropic lymphokine with multiple effects. *Immunol Today*, 1985, 6: 131.
 - 21 Hasson GJ. Class I MHC antigen expression in the atherosclerotic plaque; smooth muscle cells express HLA-DR, HLA-DQ, and the invariant gamma chain. *Clin Exp Immunol*, 1986, 64: 261.
 - 22 Thiemermann C, Wu CC, Szabo C, et al. Role of tumor necrosis factor in the induction of nitric oxide synthase in a rat model of endotoxin shock. *Br J Pharmacol*, 1993, 110(1): 127~132.
 - 23 Yamada K, Otake S, Inada C. Nitric oxide and nitric oxide synthase mRNA induction in mouse islet cells by interferon-gamma plus tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 197(1): 22~27.
 - 24 Kanno K, Hirata Y, Imai T, et al. Regulation of inducible nitric oxide synthase gene by interleukin-1 beta in rat vascular endothelial cells. *Am J Physiol*, 1994, 267(6 pt 2): H2318~24.
 - 25 Rockett RA, Awburn MM, Aggarwal BB, et al. *In vivo* induction of nitrite and nitrate by tumor necrosis factor, lymphotoxin, and interleukin-1: possible roles in malaria. *Infect Immun*, 1992, 60(9): 3725~30.
 - 26 Cenci R, Romani L, Mencacci A, et al. Interleukin-4 and interleukin-10 inhibit nitric oxide-dependent macrophage killing of *Candida albicans*. *Eur J Immunol*, 1993, 23(5): 1034~39.
 - 27 Hatzigeorgion DE, He S, Sobel J. IL-6 down-modulates the cytokine-enhanced antileishmanial activity in human macrophages. *J Immunol*, 1993, 151(7): 3682~92.
 - 28 Hwang SM, Lopez CA, Heck DE, et al. Osteopontin inhibits induction of nitric oxide synthase gene expression by inflammatory mediators in mouse kidney epithelial cells. *J Biol Chem*, 1994, 269(1): 711~715.
 - 29 Rojas A, Delgado R, Glaria L, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 inhibits the induction of nitric oxide synthase in J774 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 196(1): 274~279.
 - 30 Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *TINS*, 1991, 14(2): 60.
 - 31 李倩虹. 一氧化氮(NO)-心血管系统中的新型信使分子. *生物化学与生物物理进展*, 1993, 13(3): 125~128.
 - 32 Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 1987, 2: 1057~58.
 - 33 Bath PMW, Hassall DG, Gladwin AM, et al. Nitric oxide and prostacyclin divergence of inhibitory effects in monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium *in vitro*. *Arterioscler*, 1991, 11: 254~260.
 - 34 Garg VC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilation and 8-Bromocyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat smooth muscle cells. *J Clin Invest*, 1989, 83: 1774~777.
 - 35 Vincent SR, Hope BT. Neurons that say NO. *TINS*, 1992, 15(3): 108~113.
 - 36 Stroh M. The root of impotence; does nitric oxide hold the key? *Sci News*, 1992, 142(1): 10~11.
 - 37 赵保路. NO·自由基的性质及其生理功能. *生物化学与生物物理进展*, 1993, 20(6): 410.
 - 38 胡敏. 一氧化氮的病理及生理作用. *国外医学分子生物学分册*, 1995, 17(2): 60.
 - 39 董华玲, 沈政. 简单而又神秘的生物信使——NO. *生物化学与生物物理进展*, 1993, 20(6): 418.

(本文 1995-06-21 收到)