

一氧化氮系统功能障碍与动脉粥样硬化

景冬楼 综述 王树人 审校

(华西医科大学病理生理学教研室, 成都 610041)

摘要 近年来发现一氧化氮系统可能是一个内源性抗动脉粥样硬化机制。内皮细胞生成的一氧化氮具有抑制多种血细胞对内皮的粘附和损伤,抑制平滑肌细胞增殖、血小板活化和聚集,调节血管张力等多种作用。一氧化氮系统功能障碍,使内源性抗动脉粥样硬化机制减弱可能是动脉粥样硬化发生发展的重要因素之一。

关键词 一氧化氮; 动脉粥样硬化

在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生发展中,有一系列的致病危险因素,如高血脂、高血压和糖尿病等。但机体也有一系列抗动脉粥样硬化因素,近年来发现的一氧化氮(nitric oxide, NO)系统即可能是一种重要的内源性抗 As 机制,本文就 NO 系统与 As 的关系作一综述。

1 动脉粥样硬化发生机制

1.1 泡沫细胞的形成

内皮下充满脂质的泡沫细胞是 As 的早期表现,而单核细胞粘附和迁移入内皮下,继而分化为巨噬细胞,是泡沫细胞形成的重要步骤。众所周知,高脂血症是 As 的危险因子,它能促进超氧阴离子(O_2^-)产生,使低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)氧化修饰^[1]。氧化型 LDL(oxidized modified LDL)能诱导人主动脉内皮细胞和平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)表达和分泌单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)^[2]。同时高脂血症继发的血管内皮功能障碍也是动脉粥样硬化早期泡沫细胞形成的机制之一。这时内皮细胞可诱导性地表达多种粘附分子^[3],如内皮细胞粘附分子-1,使内皮细胞表面呈异常高粘附性。在以上因素作用下,单核细胞和淋巴细胞粘附于内皮,且单核细胞迁移入内皮下分化为巨噬细胞。而氧化型 LDL 不能被经典的 LDL 受体识别、代谢,却能被巨噬细胞的清道夫受体(scavenger receptor, SR)识别,吞噬了脂质的清道夫受体无反馈调节机制,从而造成大量脂质在巨噬细胞内堆积而形成泡沫细胞。

1.2 平滑肌细胞增殖

血管平滑肌细胞增殖是 As 斑块形成的重要步骤之一,SMC 的迁移和增殖受多种因素的影响。一些因子如碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和血小板源性生长因子-BB(platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB),在 SMC 增殖中起重要作用。已有实验证明,bFGF 和 PDGF-BB 均为强烈的促有丝分裂剂,对 SMC 均有很强的致有丝分裂活性。bFGF 和 PDGF-BB 在正常内皮细胞内均可少量表达,但一些因素如脂质过氧化损伤内皮细胞后其表达增强^[4],并分泌、释放到细胞外,发挥其生物学效应。此外,上述因子在刺激 SMC 增殖的同时,也使 SMC 合成与自分泌功能增强。

1.3 血小板的活化、聚集及血栓形成

血小板聚集和血栓形成是 As 晚期常见事件。正常情况下,内皮细胞可通过释放 NO 和前列环素(PGI_2)阻止血小板的活化和聚集。而 As 时内皮细胞损伤后,除凝血与纤溶平衡失调外,内皮细胞合成与分泌 NO 也减少,导致血小板聚集和血管收缩。血小板激活和聚集又可引起生长因子的释放,继而导致 SMC 增殖。

1.4 舒血管机制障碍和血管痉挛

高脂血症能损伤血管内皮依赖性松弛并在 As 之前损伤血管内皮。正常情况下,内皮细胞通过分泌强有力的血管舒张剂——一氧化氮和血管收缩剂——内皮素(endothelin)调节血管张力^[5],维持血管舒张与收缩之间的平衡。高脂血症时血管内皮损伤、功能不良,其产生和分泌 NO 减少,致血管舒张障碍,血管痉挛,成为 As 的发生机制之一。

2 一氧化氮的生物合成与生理功能

2.1 一氧化氮的生物合成

催化 NO 生物合成的酶称为 NO 合酶(NO synthase, NOS),NOS 以 L-精氨酸和分子氧为底物,催化 L-精氨酸的两个等价胍基氮之一,经 5 电子氧化反应生成 NO 和 L-胍氨酸。NOS 含有 4 种辅因子:黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)、黄素

单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)、四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH_4)和血红素(铁原叶啉 α),其中 BH_4 为限速辅因子。NO的生物合成主要受NOS活性和数量的调节,此外还受底物可用度、辅因子可用度和NOS亚基装配等调节。诱导型NOS需由无活性的单体聚合成二聚体才能获得合成NO的能力,而 BH_4 和L-精氨酸在促进NOS酶亚基聚合中起关键作用^[6]。

迄今已知至少有二种类型的NOS,一种是“结构型”NOS(constitutive, cNOS),主要分布于内皮细胞(eNOS)和神经细胞(nNOS),另一种是“诱导型”NOS(inducible, iNOS),主要分布于巨噬细胞和中性粒细胞。iNOS可被某些细胞因子如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、干扰素- γ (interferon- γ)和内毒素诱导激活,iNOS诱导后活性可持续达20 h,能合成纳摩尔(nmol)水平的NO,较cNOS合成的NO浓度约高1 000倍^[7],且可引起不同的生理和病理生理效应。

2.2 一氧化氮的生理功能

一氧化氮是一种多功能气体分子,具有独特的物理化学性质和生物活性,易经扩散方式快速透过细胞膜进入效应细胞,对心血管、神经、肾、免疫和其它系统的调节起重要作用,尤其是在心血管系统中具有广泛的生理功能^[8]。

2.2.1 调节内皮—血细胞的相互反应及血管通透性

内皮产生的NO可抑制多种血液成分如血小板、淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞粘附于血管内皮细胞。文献[9,10]报道抑制NO的合成能促进单核细胞的粘附,并迅速提高微血管的通透性及血浆蛋白漏出这一急性炎症过程。因此,NO具有调节内皮与单核细胞的相互反应及血管通透性的作用,其作用机制一方面可能是NO抑制MCP-1和VCAM-1的表达,这种抑制作用通过NO抑制转录因子核因子- κ B(NF- κ B)介导^[1],另一方面NO可能通过阻止超氧阴离子的形成^[11]来抑制血细胞与内皮的粘附。

2.2.2 抑制平滑肌细胞增殖 内源性NO及外源性NO供体药均能抑制SMC的增殖^[12],这种效应可能通过各种机制来完成,如抑制NF- κ B,抑制核糖核酸还原酶,阻止核苷酸的合成、糖酵解和内皮—血细胞的相互反应,抑制血小板的粘附与聚集,提高细胞内cGMP水平等。Gary等^[13]已在体内实验研究证明NO通过cGMP依赖机制抑制血管SMC的有丝分裂和增殖。

2.2.3 抑制血小板聚集和维持内皮完整性 动物实验表明,基础NO生成或通过乙酰胆碱等激活剂刺激生成的NO均能抑制由一些聚集剂引起的和内皮损伤引起的血小板聚集^[14]。血小板自身也能合成NO,血

小板活化、聚集时NOS被激活,生成的NO扩散到血管腔,与血小板相互反应维持血管内皮的完整性。实验证明NO是一种强有力的血小板功能抑制剂^[15],能抑制由ADP等诱导的血小板聚集,并能有效地分散血小板,其生物效应可能通过cGMP依赖机制所介导。

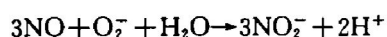
2.2.4 持续调节血管张力 早在1980年,就有实验证明NO与内皮依赖的松弛因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)具有相似的生物化学特性,后来证实NO就是EDRF。文献[16]报道使用L-精氨酸能逆转As引起的内皮依赖性松弛障碍,这一效应可能依赖于NO的产生。NO通过激活鸟苷酸环化酶提高SMC的cGMP浓度使血管舒张,是体内最主要的舒血管物质,此外,NO还能持续调节血管张力^[17]。动物实验表明,使用全身量的N-单甲基左旋精氨酸(N^G -monomethyl-L-arginine, L-NMMA)能明显提高收缩压,这一结果提示NO的持续产生与血压调节有关。已知缺氧能诱导内皮素-1(一种强有力的内皮源血管收缩剂)和PDGF-BB(一种强有力的具有血管收缩特性的致有丝分裂剂)的表达和分泌^[18,19],最近Kourembanas等^[20]证实NO在缺 O_2 条件下通过调节内皮素-1和PDGF-BB基因转录水平抑制内皮素-1和PDGF-BB的产生,说明NO也通过调节内皮血管收缩剂(内皮素)和生长因子(PDGF-BB)调节血管张力。

NO通过上述生物效应发挥对血管壁的重要保护作用。由于NO的上述作用多与As发生机制相拮抗,因而认为NO对阻止As的发生、发展起重要作用。

3 一氧化氮系统功能障碍与动脉粥样硬化

3.1 一氧化氮合酶、一氧化氮与脂质过氧化

一氧化氮合酶是体内合成NO的唯一催化酶,As影响该酶的表达和活性。一些用内皮依赖性松弛作NO释放指数的研究表明,As能损伤NO的产生,然而对亚硝酸盐(NO稳定代谢产物)和胍氨酸的分析测定表明,As期间NOS的活性有所提高^[21,22]。关于氧化型LDL对内皮细胞eNOS表达有何影响,结果尚不一致。Harrison等^[23]研究表明高胆固醇喂养家兔后,其动脉内皮细胞eNOS mRNA的表达有所增加,但十分有趣的是血管壁NO的水平并没有升高。Ohara等^[24]研究发现高胆固醇血症时 O_2^- 生成增多。 O_2^- 是生物体内自由基链式反应的关键起始氧自由基,它通过链式反应可产生一系列其它自由基,从而造成脂质过氧化和组织损伤。NO作为一种相对稳定的气体自由基,虽然对机体有害,但目前研究表明,NO在生物体内主要是作为一种 O_2^- 清除剂,它能中止 O_2^- 的链式反应,其反应如下:



当 NO 过多时,可通过清除氧自由基来抑制脂质过氧化等作用,高脂血症和 As 期间,NOS 活性增高,NO 合成增加,但同时 O_2^- 生成亦增多,过多 O_2^- 可拮抗 NO 的作用,引起内皮细胞介导的血管舒张功能异常^[25];当 O_2^- 与 NO 比例为 1:1 时,则可产生过氧化亚硝酸根(ONOO^-), ONOO^- 比 O_2^- 具有更强的氧化性,可以氧化 LDL,并可引起多种抗氧化物质的耗竭及膜脂质氧化^[26]。

3.2 四氢生物喋呤不足

四氢生物喋呤是 NOS 的必需辅因子,从 NOS 的激活到 NO 的形成均依赖适宜浓度的 BH_4 , BH_4 还能促进 iNOS 由单体聚合成二聚体,并增加二聚体的稳定性。文献[27,28]报道细胞因子通过诱导 NOS 的转录和提高 5'-GTP 环水解酶 I 的活性提高 NO 的产量,其第一步反应是喋呤(pterin)合成途径。在培养的主动脉内皮细胞中,使用 GTP 环水解酶 I 抑制剂 2,4-二胺-6-羟嘧啶(2,4-diamino-6-hydroxypyrimidin, DAHP)抑制 BH_4 的合成,能降低 NOS 激活反应中 NO 的生成,因此,细胞内 BH_4 的浓度能调节 NOS 的活性和 NO 的生成。在适宜浓度 BH_4 条件下,NOS 催化 L-精氨酸生成 NO 和 L-胍氨酸;但 BH_4 浓度不足时,NOS 催化产生 H_2O_2 而不是 NO,它是一种强力舒血管剂;在 BH_4 合成受损条件下, H_2O_2 是一种内皮依赖性松弛的介质,也是一种有力而持久的氧化剂,能导致血管氧化性损伤及脂质过氧化,进而引发 As 的发生发展。

3.3 L-精氨酸不足

L-精氨酸是 NOS 的前体,尽管 L-精氨酸的供应不是 NOS 合成 NO 的限速步骤,但体内研究显示,提供循环系统足量的 L-精氨酸仍可增加内皮细胞 NO 的合成。NOS 的一个重要特征是不仅合成 NO,也能产生超氧阴离子^[29],缺乏 L-精氨酸时,NOS 生成超氧阴离子,而 L-精氨酸存在时则超氧离子生成减少,正常血管并不缺乏 L-精氨酸,但在高脂血症、糖尿病等病理情况下可导致 L-精氨酸缺乏,从而影响 NOS 合成 NO。

高脂血症是 As 的危险因子,其损害机理之一是血管内皮依赖性松弛障碍。研究证实使用 L-精氨酸能改善高脂血症患者内皮依赖性松弛障碍,说明高脂血症时内皮依赖性松弛障碍与 L-精氨酸缺乏致 NO 合成减少有关。此外,如前所述,高脂血症时, O_2^- 生成增多,过多的 O_2^- 能拮抗 NO 的作用,从而加重 As 的损伤,造成恶性循环。

糖尿病被认为是 As 的危险因子,研究表明,糖尿病病变血管丧失了对乙酰胆碱(NOS 激活剂)的舒张效

应,提示糖尿病患者内皮细胞 NO 合成和释放异常。糖尿病患者血糖升高,一部分葡萄糖转变为山梨醇,这一过程需要醛糖还原酶,该酶在血管内皮细胞中含量很高,在催化葡萄糖转变为山梨醇时需要消耗 NADPH,后者是合成 NO 所必需的 NOS 辅酶,其减少会影响 NO 的合成。然而,最近 Pieper 等^[30]用链脲佐菌素复制大鼠糖尿病模型后发现,糖尿病大鼠血浆中 L-精氨酸明显降低,用 L-精氨酸预处理能明显增强糖尿病大鼠主动脉环对乙酰胆碱的舒张反应,说明糖尿病患者血管舒张不良可能也与 L-精氨酸不足有关。

综上所述,NO 的生物合成需整个 NO 系统各相关因素的调节,合成的 NO 具有调节血管张力,抑制 SMC 增殖,抑制多种粘附分子的表达及血小板聚集等诸多抗 As 形成的重要作用,被认为系一种内源性抗 As 形成的重要机制。NO 系统功能障碍,影响正常 NO 的生成,由此降低了内源性抗 As 的机制,而 As 时,血管内皮损伤、L-精氨酸缺乏等又进一步影响 NO 的合成,导致 As 损伤进一步加重。

参考文献

- Gibbons GH, Dzau VJ. Molecular therapies for vascular diseases. *Science*, 1996, **272**: 693~698.
- Frostegard, Nilsson, Haegerstrand, et al. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**(3): 904~908.
- Libby P. Adhesion molecules in intimal monocyte macrophage recruitment. *Atherosclerosis*, 1994, **109** (9): 330.
- Russell Ross. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, **362**: 801~809.
- Woodman OL. Modulation of vasoconstriction by endothelium derived nitric oxide: the influence of vascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1995, **22**(9): 585~593.
- Tzeng E, Billiar TR, Robbins PD, et al. Expression of human inducible nitric oxide synthase in a tetrahydrobiopterin (H_4B)-deficient cell line: H_4B promotes assembly of enzyme subunits into an active dimer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 11 771~775.
- Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, molecular cloning and functions. *Hypertension*, 1994, **23**: 1 121~131.
- Davies MG, Fucron GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg*, 1995, **82** (12): 1 598~601.

- 9 Arndt, Russell, Kurose, et al. Mediators of leukocyte adhesion in rat mesenteric venules elicited by inhibition of nitric oxide synthesis. *Gastroenterology*, 1993, **150**: 675~680.
- 10 Kubes P, Granger DN. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol*, 1992, **262**: H611~H615.
- 11 Clancy RM, Piziak JL, Abramson SB. Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on NADPH oxidase. *J Clin Invest*, 1992, **90**: 1116~1121.
- 12 Xiao J, Pang PKT. Does a general alteration in nitric oxide synthesis occur in spontaneously hypertensive rats? *Am J Physiol*, 1994, **266** (Heart Circ Physiol 35): H272~H278.
- 13 Gary UC, Hassid A. Nitric oxide and 8-bromo-cyclic GMP inhibit the mitogenic effect of both competence and progression factors in cultured rat aortic smooth muscle cells. *FASEBJ*, 1991(abstr), **5**: A1 608.
- 14 Colino P, Cappelli BM, Ambrosio G, et al. Endothelium derived relaxing factor modulates platelet aggregation in an vivo model of recurrent platelet activation. *Circ Res*, 1992, **71**: 1447~1456.
- 15 Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiol Dis*, 1995, **38** (2): 87~104.
- 16 Cook JP, Tsao P. Cellular mechanism of atherogenesis and the effects of nitric oxide. *Curr Opin Cardiol*, 1992, **7**: 799.
- 17 Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiological messenger. *Ann Intern Med*, 1994, **120**: 227~237.
- 18 Kourembanas S, Morsden PA, Mcquillan LP, et al. Hypoxia induces endothelium gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest*, 1991, **88**: 1054~1057.
- 19 Kourembanas S, Hannan RL, Faller DV. Oxygen tension regulates the expression of the platelet-derived growth factor-B chain gene in human endothelial cells. *J Clin Invest*, 1990, **86**: 670~674.
- 20 Kourembanas S, Mcquillan LP, Leung GK, et al. Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia. *J Clin Invest*, 1993, **92**: 99~104.
- 21 Lang D, Smith JA, Lewis MJ. Induction of a calcium-independent NO synthase by hypercholesterolaemia in the rabbit. *Br J Pharmacol*, 1993, **108**: 290~292.
- 22 Pomerantz KB, Hajjar DP, Levi R, et al. Cholesterol enrichment of arterial smooth muscle cells upregulates cytokine induced nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, **191**: 103~109.
- 23 Harrison DG, Ohara Y. Physiologic consequences of increased vascular oxidant stresses in hypercholesterolemia and atherosclerosis implications for impaired vasomotion. *Am J Cardiol*, 1995, **75**: 75B~81B.
- 24 Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 2546~2551.
- 25 Darley UV, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett*, 1995, **369**: 131~135.
- 26 Radi R, Bechman JS, Bush KM, et al. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*, 1991, **288**: 481~487.
- 27 Wermer FG, Werner ER, Fuchs D, et al. Tetrahydrobiopterin-dependent formation of nitrite and nitrate in murine fibroblasts. *J Exp Med*, 1990, **172**: 1599~1607.
- 28 Werner FG, Werner ER, Fuchs D, et al. Pteridine biosynthesis in human endothelial cells. Impact on nitric oxide mediated formation of cyclic GMP. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 1842~1846.
- 29 Pou S, Pou WS, Bredt DS, et al. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 173~176.
- 30 Pieper GM, Peltier BA. Amelioration by L-arginine of a dysfunctional arginine/nitric oxide pathway in diabetic endothelium. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995, **25**(3): 397~403.

(1997-06-13 收到, 1998-04-06 修回)