维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)02-0218-04

肾缺血再灌注损伤的内皮素作用的生物学研究

郑传东 综述,苟 欣 审校

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R392.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-10-19

内皮素(endothelin,ET)是 Yanagisawa 首先从猪的主动脉内皮细胞中分离出来并命名,ET 是至今所知道的最强力的内源性血管收缩剂[1],同时还有促进内皮细胞增殖的作用。ET-1 主要来自血管内皮细胞,也可产生于平滑肌细胞、心肌细胞等其它细胞。缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury)是指缺血组织或器官重获血流灌注或氧供后,对组织和器官所产生的损伤作用。近年来发现,缺血再灌注损伤与内皮素的作用有密切的联系,内皮素的作用可能在肾缺血再灌注损伤中起重要作用。本文从分子生物学水平将内皮素介导肾缺血 - 再灌注损伤的研究情况进行综述。

1 ET 的生物学特点

1.1 ET 的结构及基因定位

ET 是一种 21 个氨基酸的小分子蛋白,分子量为 2492,含 2 个二硫键,6 个可变氨基酸。已确认 ET 家族有 ET-1、ET-2 和 ET-3 三种异构肽,而以 ET-1 活最强。ET-1 是由 ET-1 前体原(prepro ET-1)经 ET-1 原(pro ET-1)即 big ET 转变而来,血浆中有 ET-1 和 big ET 两种成分,但只是前者有生物活性。人 ET 基因的染色体定位已经确定[2],ET-1 基因位于第 6 号染色体 P22~P24,全长 1246bp 有 5 个外显子和 4 个内含子;ET-2、ET-3 基因分别定位于 1 号染色体及 20 号染色体,其表达各有不同的组织特异性,如人的 ET 基因 -1 主要在血管内皮细胞表达,而 ET 基因 -2 和 ET 基因 -3 主要在神经组织表达 ET。

1.2 肾内 ET 的表达及其受体分布

肾脏缺血再灌注后,血浆 ET-1 显著升高[3,4]。血浆 ET-1 升高可能主要是肾脏缺血再灌注后肾脏 ET-lmRNA 分布改变所致,除正常分布部分 ET-lmRNA 明显阳性外,系膜细胞、近端小管 ET-lmRNA 也呈强阳性,提示肾缺血缺氧的刺激导致正常组织细胞 ET-1 基因表达增强,同时使原来不表达或低表达 ET-1 基因的组织细胞大量表达和分泌 ET-1。再灌注后,肾脏 ET-1 基因的表达和分泌均显著增多,肾皮质、髓质 ET 水平显著升高,以髓质升明显[5,6]。增加的 ET-1 能引发或参与肾脏血流动力学的改变,如弓状动脉、叶间动脉、肾小球动脉内皮细胞 ET-lmRNA 的表达。平滑肌上大量 ET-1 导致这些血管收缩,进一步加重肾缺血[4]。用分子克隆方法已鉴定出两种 ET 受体,即 ET-A 受体和 ET-B 受体,两者均属 G 蛋白偶联系列。ET-A 对 ET 各异构体的亲和力不同,其大小呈 ET-1 > ET-2 > ET-3 顺序。ET-B 则与各异构体的亲和力相同。ET-A 受体为 ET-1 的选择性受体,主要分布于平滑肌细胞,参与收缩血管。ET-B 受体为非选择性受体,多分布于内皮细胞,参与一氧化氮及前列腺素的释放,同时还抑制 ET 的分泌。研究表明各型受体还包括不同的亚型:ET-A 受体有两种亚型,即 ET-A1 和 ET-A2。ET-A1 对 ET-1 有较高的亲和力,主要存在于大脑皮层;ET-A2 对 ET-2 有较高的亲和力,存在于脊髓,也有资料表明,在鼠纹状体 ET-B 受体大部分位于多巴胺能神经元[7]。

1.3 ET 的分泌调节

有关 ET 的分泌调节机制仍不清楚。有学者认为对内皮细胞合成、分泌和释放 ET 的调节是在 RNA 转录和翻译水平上进行的,而不是调节其释放过程。许多理化因素在基因 - 蛋白水平调控 ET-1 的合成:血管紧张素Ⅱ、转化生长因子 B1、血小板衍生生长因子、凝血酶、肿瘤坏死因子、白细胞介素 -1 和氧自由基等均可促成 ET-1 的合成,而血管紧张素转换酶抑制剂、肝素、一氧化氮(NO)、前列腺素 E2、心房利钠因子和血小板衍生生长因子的拮抗剂等对 ET-1 的合成均有抑制效应[8]。

2 ET 对血管的抑制作用

在肾血管系统,ET-1 在活体和离体实验中均可引起一种极为持久的剂量依赖性缩血管反应。由于 ET-1 在血浆中的浓度仅为 10~12mmol/L,却能产生高效而持久的缩血管反应,所以有人提出它在充当一种循环激素或旁分泌激素的角色。ET 从血管内皮细胞释放之后,事先与靶细胞表面受体结合,引起多种膜上反应,包括:①ET 受体与 G 蛋白偶联,激活磷脂酶 C,分解磷脂酰肌醇产生三磷酸肌醇(IP3)和甘油二酰(DG),IP3 及其代谢产物作用于特殊受体,促进细胞内储存 Ca^{2+} 的释放,Ca^{2+} 与钙调素有关,其作用是通过调节活性物质

作者介绍:郑传东(1977-),男,硕士,
主要研究方向:肾移植的基础及临床研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

分解成激活酶类而引起生物效应[9]。②ET 通过其受体,间接打开电压依赖性 Ca^{2+} 通道,促进细胞外 Ca^{2+} 内流,细胞内 Ca^{2+} 浓度升高[10]。③ET-1 与受体结合后 Na^+/H^+ 交换,Na^+ 的摄取,推动 Ca^{2+}/Na^+ 交换,促进 Ca^{2+} 的内流[11]。④还可通过磷脂酶 A2 和磷脂酶 D 来调节其缩血管作用。肾脏缺血 - 再灌注后,弓状动脉、叶间动脉、肾小球动脉内皮细胞 ET-lmRNA 的表达,平滑肌上大量的 ET-1 可通过导致这些血管收缩、血管痉挛及血管通透性,促进无复流现象的发生,进一步加重肾组织细胞的缺血[4],导致肾缺血 - 再灌注损伤。

3 ET 激活中性粒细胞

体外研究发现,在加入 ET-1 的人中性粒细胞培养液中,弹性蛋白酶的释放显著增加,并与 ET-1 呈剂量时间依赖关系。弹性蛋白酶是中性粒细胞激活后释放的细胞内容物,其释放增加,表明了中性粒细胞激活的增强[12]。ET 激活中性粒细胞的机制包括:①肾脏缺血 - 再灌注后产生的 ET-1 对血管的收缩作用促使白细胞更易大量聚集、嵌顿、粘附于血管内皮上并被 ET-1[13]等介质激活,刺激白细胞兴奋性氨基酸的释放,促进中性粒细胞的黏附,活化释放蛋白酶产生大量的氧自由基。②被激活的中性粒细胞同时释放出一系列胞浆内容物(中性粒细胞颗粒、溶菌酶乳铁蛋白、阳离子蛋白等),介导了血管内皮损伤[14]。损伤的内皮细胞释放的氧自由基作用于细胞膜后,产生一些具有化学趋化作用的代谢产物,例如白三烯(LT),使局部白细胞增多,产生更多的氧自由基[15]。中性粒白细胞也被补体和花生四烯酸代谢产物激活,使氧自由基的生成量呈爆发性增加[16]。③被中性粒细胞损伤的内皮细胞又释放更多的内皮素:而升高的内皮素反过来又作用于血管,使血管进一步收缩,促使更多的内皮素释放[17]。如此反复作用,血浆中的 ET-1 大量增加,进一步引起血管痉挛及血管通透性增加,加重肾组织细胞的缺血:进一步激活更多的中性粒细胞产生更多的氧自由基。因此 ET-1 可通过参与激活中性粒细胞,增加大量的氧自由基介导肾缺血 - 再灌注损伤。

4 ET 对细胞的直接损伤

肾脏缺血 - 再灌注后产生的 ET-1 可对肾脏细胞产生直接损伤。①正常情况下,血管内皮细胞不含黄嘌呤氧化酶(XO),但在低温缺氧并复温供氧后,异常释放的 El-1 通过自分泌途径,与自身表面特异性受体 ETB-1 结合,经过内源性 NO、前列环素、ATP 门控钾通道等介导,导致虽具扩血管作用,但不能持续释放且易于耗竭的 NO 等生成增加[18],亦导致 XO 大量生成,ATP 降解亦致次黄嘌呤增加,在 XO 作用下生成大量氧自由基。氧自由基可损伤血管内皮细胞中靠近氧自由基生成部位的线粒体 DNA,灭活抗氧化酶及造成脂质膜过氧化损害。②ET-1 可直接激活细胞膜上的磷脂酶 A2,加速花生四烯酸代谢,产生大量自由基,使细胞膜通透性增加[19]。③Maczewski 等认为,在缺血再灌注中内皮素诱导蛋白激酶(PKC)的活性增加了超氧自由基和其他的有毒代谢产物,这就造成了对内皮和内皮功能的损害[20]。④ET 受体与靶细胞 G 蛋白偶联,激活磷脂酶 C,分解磷脂酰肌醇产生三磷酸肌醇(IP3)和甘油二酰(DG),IP3 及其代谢产物作用于特殊受体,促进细胞内储存 Ca^{2+} 的释放,Ca^{2+} 与钙调素有关,其作用是通过调节活性物质分解成激活酶类而引起生物效应[9]。⑤ET 通过其受体,间接打开靶细胞电压依赖性 Ca^{2+} 通道,促进细胞外 Ca^{2+} 内流,细胞内 Ca^{2+} 浓度升高[10]。⑥ET-1 与靶细胞受体结合后 Na^+/H^+ 交换,Na^+ 的摄取,推动 Ca^{2+}/Na^+ 交换,促进 Ca^{2+} 的内流[11]。因此 ET 可通过激活多种磷脂酶促进磷脂膜分解,使细胞器破坏;增进细胞钙释放和细胞外钙内流从而导致细胞钙超载[21];诱导 PKC 等的活性增加了超氧自由基等有毒代谢产物直接损伤肾脏细胞。另外 ET 还可以通过收缩血管,改变红细胞膜 Na^+-K^+ 泵、Ca^{2+} 泵的活性,导致红细胞变形能力下降和血液粘度增高[22]。

5 ET 和血管紧张素 II 的协同作用

5.1 ET 和 Ang-2 相互调节机制

血管紧张素 II (Ang-2) 是血管紧张素系统的主要活性肽。目前的研究表明[23],Ang-2 与 ET 对心血管系统具有许多类似的作用,两者存在正反馈调节机制,该机制对机体的生理、病理过程具有重要意义。1989 年 Emori 等[24]在人工培育的牛血管内皮细胞上研究 Ang-2 对内皮素分泌的影响,发现内皮素分泌水平随着 Ang-2 水平的升高而升高。近年来有关利用体外培养内皮细胞、血管平滑肌细胞整体动物实验结果均已表明 Ang-2 能刺激 ET-1 合成[25-28]。程虹等[29]认为,ET-1 与 Ang-2 间存在密切联系及交叉反应,ET-1 可升高血管紧张素转化酶活性,促进 Ang-1 向 Ang-2 转化,而 Ang-2 亦可提高 ET 转化酶 (ECE) 活性并增强前 ET-1 前体(pre-proET-1) - mRNA 转录两个途径来刺激 ET-1 合成[30,31];两者还可共用一个双重受体并相互影响。曹翠平等[32]证实:ET-1 受体拮抗剂或 ACEI 制剂均能显著抑制 Ang-2 及前内皮素原 mRNA 的表达。d'Usico 等[33]的研究表明,用 Ang-2 诱发的高血压可用 ET-1 受体拮抗剂降正常,并同时使组织中的 ET 含量降至正常。

5.1 ET 和 Ang-2 协同损伤作用

肾脏缺血再灌注后,ET-1 和 Ang-2 间通过相互正反馈调节机制,同时促进 ET-1 和 Ang-2 的产生都增加。两者还存在协同作用:①大量的 Ang-2 增加毛细血管阻力,扩大内皮细胞间隙,增加毛细血管通透性以及吸引中性粒细胞参与炎症反应[34]。② Ang-2 通过其受体 AT1 - R 促进血管收缩、醛固酮分泌、心肌肥厚和细胞生长、儿茶酚胺释放,儿茶酚胺能自动氧化为氧自由基,损伤肾脏细胞;通过其受体 AT2-R 促进血管扩张、生长抑制、钙离子通道抑制等,过度表达可以引起

维普资讯 http://www.cqvip.com

负性变时作用、动脉血管阻力下降[35]。③Ang-2 还可以同 ET-1 一起激活细胞内 G 蛋白、磷脂酶 C、蛋白激酶(PKC)等类似的信号传导系统而产生细胞毒性作用。可见 ET 和 Ang-2 在肾脏缺血再缺血 - 再灌注的相互协同作用加重了肾脏的进一步损伤。

6 评 述

综上所述,缺血再灌注损伤本身是一个多因素协同的过程,肾缺血再灌注后内皮素作用的机理也是一个多因素的过程,目前具体机理尚未完全清楚,相信随着分子生物学技术的深入研究,人们会逐渐了解肾脏缺血再灌注损伤的发生机制,为临床治疗指明方向。

参 考 文 献

[1] Yanagisawa M,Kuceihara H,Kimura S,et al.A novel potent vasoconstrictor peptide by vascular endothelial cells[J]. Nature,1988;332(6163):411-415.

[2] Inoue A,Yanagisawa M,Takuwa Y,et al.The Human preproen.dothelin-1 gene[J].Biol Chem,1989;264(25):14954-15959.

[3] 吴雄飞,金锡御,刘 宏,等.缺血再灌注组织内皮素 -1 动态变化的实验研究 [J]. 中华泌尿外科杂志,1997;18:404-407.

[4] 余响安,余明军,谢佛龙,等.内皮素在急性肾缺血再灌注损伤中作用的实验研究[J].中华泌尿外科杂志,1997;18:75.

[5] 王利华,梁秀彬,苏东明,等.缺血预处理对大鼠急性肾缺血再灌注损伤中内皮素 1-mRNA 表达的影响[J].中华泌尿外科杂志,2000;21(9):557-558.

[6] 刘 宏,金锡御,吴雄飞.急性肾缺血肾衰后内皮素免疫组化改变[J].中华泌尿外科杂志,1996;17:396-398.

[7] Webber KM,Pennefather JN,Hcad EA,et al. Endothelin induces dopamine release from rat striatum via endo thelin-B receptors[J].Neu.roseience,1998;86(4):1173-1180.

[8] Darius C,W idenka MD,Ralph J,et al. Inducible nitric oxide syn - thase:a po ssible key factor in the pathogenesis of chronic - vasospasm after experimental subarachnoid hem-orrhage[J].Neurosurg,1999;90(6):1098 - 1104.

[9] Aramori I,Nakanish S. Coupling it two endothelin re-ceptor subtypes to differing singnal transfected Chinese ham-ster ovary cells[J].BiolChem,1992;267(18):12468 - 12474.

[10] Bolger GT,Liard F,jaram illo J,et al.Tissue selectivty and calium dependent of contractile respo nse to endothelin [J].Cardiovas Phrmol,1990;15(6):946 - 958.

[11] Vigne P,Lalux A.Frelin C.Endothelins activate Na+/H+ exchange in brain capillary endothelial cells via a high affinity endothelin.3 receptor that in not coupled to phospho-liase C[J].Biol Chem,1991;266 (9):5925 - 5928.

[12] Halim A, Kanayama N, EL Maradny E,et al. Corre-lated plasma elaslase and sera [J].AM J Hyperlens,1996;9:33-38.

[13] 曹 华. 内皮素 -1 与肺缺血 / 再灌注损伤的实验研究[J].心脏杂志,2003;15(6):

[14] Clar P,Boswell F, Greer LA. The neutrophil and preeclampsia[J]. Serum Reprod Endocrinol,1998;16:57-64.

[15] 吴其夏,余应年,卢 建,主编.第 2 版,病理生理学[M].北京:中国协和医科大学出版社,2003.271-296.

[16] Wei ght SC,Bell PRF,Nicholson ML. Renal ischemia reper—fusion injury[J].British Joum-of Surgery,1996;83:162.

[17] Macmillan C S,Grant I S,Andrews P J. Pulmonaryand cardiac sequelac of subarachnoid hemorrhage:time for active-management[J].Inten-sive Care Med,2002;28:1012-1023.

[18] Zuccarello M,Boccalett R,Rapoport RM. Does block-ade of ETBR activationincrease Eq'B2—mediated constriction in the rabbit basilar artery[J].CaIdi0—VaSE Phamacol,1999;33(5):67.

[19] Helset E,Kjaeve J,Hauge A. Endothelin-1 induced in—creases in microvascular permeability in isolated perfuse-drat requires. leukocytes and plasma [J].Circ Shock,1993;39(1):15-20.

[20] Ljfer8 GJ.Cleton,Jansen AM,van de Velde CJ,et al. Mierometastases and survival in stage Ⅱ coloreetal cancer[J].N Engl J Med,1998;339(4):223-228.

[21] 杨旭凯,黄维坤,何 红,等.缺血预处理对急性肾缺血再灌注损伤时肾组织结构和 ET 的影响[J].西北国防医学杂志,2004 Aug.;25(4).

[22] 刘久波.脑梗塞患者 ET 与红细胞膜 Na^+-K^+,Ca^{2+}-Mg^{2+}ATP 酶的关系及其对血液粘度的影响[J].郧阳医学院学报,2001;20(3):138.

[23] Dohiy.Endothelin stimulated by angiotensln aug-mentscontractility of spontaneously hypertensive ratresistaflee arteries[J].Hypertension,1999;19:131.

[24] Emori I,Hirata Y,Ohta K,et al.Secretory mechanism of im. munoreactive endo thelin in cultured bovine endothelial cells[J].Biochena Biophysiol Res Commun,1989;160:93.

[25] Kohno M,Horio T,lkeda M,et al. Angiotensin 11 stimulates en. Dothelir-1 secretion in cultured rat mesangial cells[J].Kidney Int,1992;42:860.

[26] Chua BHL,Chua CC,Diglio CA,et al.Regulation of endo thelin-1 mRNA by angiotensin 11 in rat heart en-dothelial cells[J].BiochenaBiophys Acta,1993;1178:201.

[27] Imai T,Hirata Y,Emori T,et al. Induction of endo thelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endo thelial

维普资讯 http://www.cqvip.com

cells[J].Hypertension,1992;19:753.

[28] Ajagopalan S,Laursen JB,BorthyreA,et al. Role for dothelin-1 intmgiotensin 11 mediated hypertension[J].Hypertension,1997;30:29.

[29] 程 虹,田雪飞,董鸿瑞,等.糖尿病肾病大鼠肾脏内皮素-1与血管紧张素-2交叉作用的初步探讨[J].中华医学杂志,2004;84(3):248-252.

[30] Rrbelink TJ,Bakris GL. The rennin-agiotensin system in diabetic nephropathy:the endothelial connection [J].Miner Electrolyte Metab,1998;24:381.

[31] Rossi GP,Sacchetto A,Cesari M,et al.Interactions between en.dothelin-1 and the rennin-angiotensin-aldosterone system[J].Cardiovase Res,1999;43:300.

[32] 曹翠平,刘国良,温滨红.血管紧张素-2受体拮抗剂对糖尿病肾病患者降钙素基因相关肽、内皮素水平的影响[J].中华内分泌代谢杂志,2004;20(6):530-531.

[33] D'Usieo L.Structure and function of a small artories insah induced hypertension:effects of chronic ETA receptor-blockade[J].Hypertension,1997;30:995.

[34] Mancla G,Levy BL,Michel JB,et al. Recent advance in ACE inhibition in the meatment and heart failure [J].Am J Cardio,1993;71(17):8.

[35] Unger T,Chung O,Csikes,T,et al Angiocensin receptors [J].Hypentens,1996;14(suppl5):95-103.

(上接第 212 页)

参 考 文 献

[1] Kikuchi M.Lymphadenitis showing focal reticular cell hyperplasia with nuclear debris and phagocytes:a clinicopathological study[J].Nippon Ketsueki Gakkai Zassho,1972;35:379-380.

[2] Fujimoto Y,Kojima Y,Yamaguchi K.Cervical subacute necrotizing lymphadenitis[J].Naika,1972;30:920-927.

[3] 同济医科大学病理学教研室, 中山医科大学病理学教研室,编著.外科病理[M].第 2 版.1999.580.

[4] 王洪霞,李彦民,李双林.细针穿刺细胞学诊断菊池病体会[J].中华医学杂志,2004;4:9.

(上接第 213 页)

禁止站立咳嗽等。(3)心理护理:讲解疾病相关知识及如何配合治疗护理,减轻患者及家属焦虑恐惧心理。(4)指导有效地咳嗽,协助排痰,有利于痰液顺利咳出。(5)对症处理:遵医嘱使用止咳祛痰解痉等药物治疗,并观察药物疗效和副作用。

参 考 文 献

[1] 杨恒艳,张佃珍,刘兰霞,等.咳嗽性晕厥的相关因素分析及护理[J].实用医技杂志,2002;9(9):709.

[2] 余更生,赵学群,张久山.咳嗽晕厥(综合征)13 例临床分析[J].天津医药,2002;30(10):631.

[3] 郝兆魁.咳嗽性晕厥 2 例报告[J].江苏临床医学杂志, 2002; 6(3): 246.

[4] 陈庭富,梁 艳.咳嗽晕厥综合征 10 例[J].现代医药卫生,2002;18(12):1093.

(上接第 217 页)

[32] Jing S,Arima K,Hasegawa M,et al.Decreased expression of KAI1 metastasis suppressor gene is a recurrence predictor in primary pTa and pT1 urothelial bladder carcinoma [J].International Journal of Urology,2004;11(2):74-82.

[33] Yang GZ,Ding YQ,Liu L,et al.Changges of biological characteristics of colon carcinoma cell line LoVo induced by KAI 1/CD82 *transfection*[J].*Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*,2004;33(1):49-52.

[34] Huang CI,Kohno N,Ogawa E,et al.Correlaation of reduction in MPR-1/CD9 and KAI1/CD82 expression with recurrences in breast patiengts[J].Am J Pathol,1998;153(3):973-983.