维普资讯 http://www.cqvip.com

L-精氨酸，氧化氮通路，肝病研

第19卷 第2期 重庆医科大学学报 Vol.19 No.2
1994 ACTA UNIVERSITATS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1994

(27)

157~160

L-精氨酸:一氧化氮通路与肝病研究进展

检验系 汤习锋 综述 康格非 审校

中图分类号 Q517

R575.02

1987年首次公布血管内皮细胞的一种酶——一氧化氮合成酶(Nitric Oxide Synthase, NOS)催化合成一种内皮诱生舒张因子(EDRF),即是一氧化氮(Nitric Oxide或Nitrogen Monoxide,NO),开辟了一项生物学研究新领域;近五年的研究显示了NO在许多生理系统和病理生理状态中起着介质、信使及细胞功能调节作用[1]。随着各种物理、化学及生物性肝损伤与败血症、内毒素血症之间的相互联系、相互作用的医学生物学研究的不断深入,这类疾病的发生机制可能涉及NO的生物合成代谢途径,与活性NO自由基(·N=O)介导的肝细胞功能、细胞间通讯的调节以及细胞素作用密切相关,在肝细胞蛋白质合成调节、肝中毒及肝硬化血液动力紊乱诸方面,显示了重要意义[2]。但·NO的生物合成、释放及介导的生物效应可能还涉及更为复杂的生化机制[3]。

1. L-精氨酸:NO通路的特征及功能

哺乳细胞分泌的NO都是由NOS催化L-精氨酸生成瓜氨酸及·NO,反应发生在末端氨基氮原子。目前至少发现存在二类NOS[1]。一类是组成酶(Constitutive),以存在于血管内皮细胞的为代表,为胞浆酶、依赖NADPH、Ca^{2+}/钙调蛋白,由受体或物理刺激短期释放NO(数分种),主要功能是作为多种生理反应的传导机制,已研究的有:血管舒张、血小板聚集和粘附抑制、细胞粘附、神经传导、阴茎勃起等。其作用机理普遍认为它是可溶性乌苷酸环化酶的内源激活剂。另一类NOS是诱导酶(Inducive),以存在于巨噬细胞中的为代表,在内皮、肝细胞等其它细胞中也发现了这类需由诱导因子激活、诱生的胞浆NOS,但分子量和性质显然不同,不依赖$Ca^{+}2$,需要四氢喋呤和其他核黄素类作为辅因子,一经表达可较长时期合成NO(数小时),诱导受糖皮质激素抑制。诱导合成的NO目前较明确的作用是微生物和肿瘤细胞的细胞毒分子,也可能介入血管扩张、组织损伤等其他生物功能。此外,二类NOS均可被L-精氨酸类的物如:N^{G}-甲基-L-精氨酸(L-NMMA)、N^{G}-硝基-L-精氨酸(L-NNA)等呈对映异构特异的竞争性抑制,但二种酶对抑制的敏感性不同。二类NOS的比较如表1。

表1 二类NOS的性质异同

组成酶	诱导酶
胞浆酶或其它	胞浆酶
依赖NADPH	依赖NADPH和其它辅因子
二氧酶(Dioxidase)	二氧酶
L-精氨酸类似物抑制	L-精氨酸类似物抑制(程度不同)
依赖Ca^{2+}/钙调蛋白	不依赖Ca^{2+}/钙调蛋白
皮克水平释放、短期	纳克水平释放、长期
糖皮质激素不影响	糖皮质激素抑制诱导

维普资讯 http://www.cqvip.com

NO具有不同于其他任何已知生物介质的理化特征。无色、微溶于水，在溶液中半衰期＜10秒。很快被氧化成亚硝酸盐及硝酸盐。NO在生物体系中的半衰期＜5秒，具有高亲脂性，易透过细胞膜，可被超氧阴离子破坏和与含血红素蛋质结合如：乌苷酸环化酶、氧化血红蛋白等，因而NO在生成细胞本身功能及细胞间通迅调节上有着深广作用[3]。可以相信NO的多种生物作用还与其在生物体系中存在多种氧化还原活性态、形成多样NO的复合物，以不同的包装运输形式、半衰期及反应特征引发特异生物效应等更复杂的生化机理有关[4]。

近期可得资料表明，人肝组织中存在典型诱导性NO生物合成通路[5]，可能在肝机能调节、肝中毒及肝硬化血液动力反应中起着十分重要的作用。

2．内源性NO与败血症肝机能障碍

败血症所致多器官衰竭(MOF)，肝机能障碍常表现血清胆红素、肝相关酶活性增高及白蛋白降低。低白蛋白血症的可能多重机制中起码部分是因肝细胞合成功能下降，然而导致肝机能障碍的机制迄今所知甚少。细菌产物如：内毒素直接作用或通过激活巨噬细胞(肝枯氏细胞)释放白介素1(IL-1)和肿瘤坏死因子(TNF)等分泌物的作用是当前研究的焦点之一。近期研究指出肝组织中诱生的NO是其中的重要活性介质，其作用方式如图1示[2]。

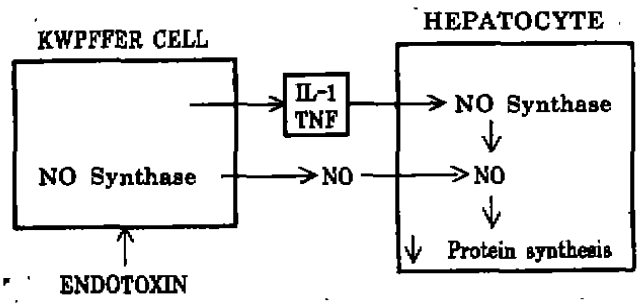


图1． NO介导的抑制肝细胞蛋白质合成的可能机制

NO与肝细胞蛋白质合成的调节[7,8]细胞培养实验表明：肝枯否氏细胞经内毒素诱导可产生NO，介导肝细胞蛋白质合成抑制；肝细胞(实质细胞)依赖活性枯否氏细胞的产物(细胞因子)，自身可诱生NO，抑制蛋白质的合成。外沅可靠NO也可抑制肝蛋白合成能力。提示肝中枯否氏细胞和实质细胞存在不同的NOS诱导表达调控方式和可能的酶动力学特征差异。

NO抑制肝细胞蛋白质合成的机制[9-11]目前的研究结果提示：与肝细胞的变性坏死无关，不完全依赖NO激活乌苷酸环化酶，使cGMP增高；NO可能通过抑制线粒体呼吸，但与蛋白质合成抑制的时相不相吻合(前者1—2小时即恢复，后者延续至12小时)；NO还可能通过调节白蛋白MQNA加工的酶促反应过程。如：影响ADP—核糖转移酶。

生理意义和预期临床价值　肝细胞机能障碍，白蛋白合成下降虽然不是败血症性MOF病人存活的决定因素，但可以相信：NO的生物合成可能涉及与某些低白蛋白血症相关的严重肝病如：肝硬化、凝血因子合成受损等的病理生理机制。虽然目前NO显得并不介导兴奋剂激活的鼠肝糖原分解，却尚不能排除内源NO调节其他肝细胞功能如：糖或脂类代谢的可能性。NO在人肝机能障碍中不容忽视的作用一经证实，调控NO生物合成通路的措施可能具有重要的临床治疗意义。

3.内源性NO与肝中毒

内毒素及药物诱导性肝中毒　内毒素和肝毒性药物使肝内皮症巨噬细胞趋化富集，激活并分泌毒性产物被认为是致肝损害的重要因素。体外实验证明其中NO能杀伤肝肿瘤细胞系并可能介导内毒素或药物诱导性肝损伤[12]。然而目前证据尚不足，有的实验证明在活体内毒素诱导的鼠肝坏死模型中，肝细胞合成NO如预期增多，但用NMMA等降低NO却显著加重肝损伤。该实验中NO的细胞来源及护肝机制尚未得到阐明[13]。

内沅NO影响药物性肝中毒的途径可能

维普资讯 http://www.cqvip.com

是改变了药物代谢和肝解毒功能中起重要作用的细胞色素P450酶系[14]。NO可结合含血红素蛋白质(包括多种细胞色素P450酶)，结合的效应尚不清楚，可能改变酶活性，这在其他组织中已得到验证。

内源性NO与氧化性肝损伤　在多种肝损伤中，活性氧中间体被认为是重要致病因素[15]。这些物质带有一个或多个本配对电子包括：超氧阴离子、过氧化氢和羟自由基等。它们与膜、DNA损伤，脂质过氧化和导致肝细胞杀伤密切有关。近期研究指出NO可与超氧阴离子等自由基反应二成低毒物质[16]，这种NO抗氧化能力似可解释上述内毒素诱导的鼠肝坏死模型中NO的保护作用。同时有的研究也表明NO与活性氧中间体反应生成高毒性物质[17]，如NO与超氧阴离子反应生成过亚硝酸阴离子(Peroxynitrite anion)，进一步分解为等同羟自由基活性的强氧化物和诱使巯基氧化及脂质过氧化。因而NO也可能与超氧阴离子作用加重氧化性肝损伤。

NO与免疫性肝中毒　在介导免疫系统功能方面，NO显示了如下作用：(1)细胞毒巨噬细胞效应分子[18]，(2)中性粒细胞趋化和粘附调节[19]，(3)免疫复合物沉积致组织损伤的介质[20]，(4)淋巴细胞增殖的调节[21]。可以相信在免疫系统有关的肝病中如：自身免疫性肝炎、病毒性肝炎和肝移植免疫反应等，内沅性NO介导了这些作用。

4.内源性NO与肝硬化血液动力紊乱

肝硬化门脉高压与内脏、系统血液动力紊乱密切相关，常表现外周血管扩张、血压下降，心率、心输出量增高的失代偿高动力循环而有效血浆容量下降，导致多并发症如：腹水、水肿及肝肾综合症等。此症重要原发因素是外周血管舒张和有效血浆容量下降，故长期以来门脉高压时机体对内沅性血管舒张、收缩因子反应的研究颇受关注，这些血管活性物质不胜枚举，但迄今未发现起决定作用的因子。

近年研究提示内源性NO可能介导肝硬化高动力循环，主要依据是：内源性NO是人和动物血管弹性的重要调节因子[22]；兴奋剂(如：乙酰胆碱)诱导的内源性NO释放导致类似肝硬化高动力循环的血液动力反应[23]；肝硬化常伴有循环中高内毒素水平，可诱导内皮细胞NO合成，导致人和动物的高动力循环[24]；肝硬化病人尿中高cGMP水平可能与NO的合成有关[25]；在门脉高压鼠模型中，内源性NO的生成介导系统和内脏血管舒张[26]；美兰(乌苷酸环化酶抑制剂)有效升高肝硬化和严重门脉高压病人血压。

肝硬化循环中高水平内毒素诱导血管NOS，合成并释放NO导致高动力循环，进一步发展为多种并发症如图2示。

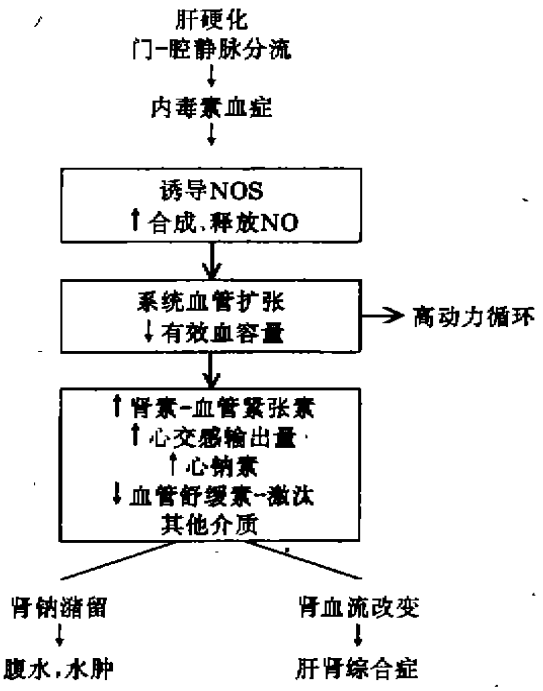


图2 内毒素诱导血管NOS致有效血浆容量下降和肝硬化并发症的可能机制

这一假设机制的验明将为临床防治与血管扩张有关的肝硬化并发症提供新途径包括：用喹啉等抗生素选择性清除G-需氧菌丛、降低循环内毒素水平；用糖皮质激素等特异、无毒药物阻断NOS诱导表达；开发研究NOS抑制剂等。然而目前存在许多与该假设不符

维普资讯 http://www.cqvip.com

之处如:慢性灌注内毒素引起腹水却无血压的改变,似与血管通透性增高有关;门脉结扎鼠模型中并无内毒素血症发生;重复低剂量内毒素脱敏并不减缓高动力循环状态;抗生素更活肠源菌并不改变内脏血流状况等,均有待澄清、证实。

NO与门静脉高压的治疗　门脉高压病人尽管采取主动复苏与治疗措施,食管静脉曲张出血仍是高发病与致死主要因素。新近NO供体药物如Mosidomin(抗心绞痛药)显示了显著降低鼠和人肝硬化门脉压作用,且对系统血压无或仅有较小影响,长期用药不引起药物耐受[28]。

综上所述,机体普遍存在L-精氨酸:NO通路,不稳定NO在多种生理系统中表现出重要的生物介质特性和功能。在肝脏生理功能和疾病中,内毒素、细胞因子诱导NOS、合成NO可能是调节肝细胞蛋白质合成、介导各型肝中毒及影响肝硬化血液动力变化的重要机理。这一研究似刚从细胞生理、细胞间通讯调节及细胞毒作用上展开。深入研究生物体系中NO的多氧化还原活性态、形成多种活性大分子复合物及所决定的包装运输形式、生物半衰期和与靶蛋白相互作用的特异生物效应;进一步揭示肝组织诱导性NOS表达调控、结构与功能,将有助于认识这一生物疾病新范畴的基本规律,为败血症休克和肝疾病临床开辟新的防治途径。

参 考 文 献

1 Moncada S,et al. Pharmacol Rev 1991;43：109
2 Stark ME, et al. Gastroenterology 1992;103：1928
3 Nathan C, et al, FASEB J 1992;6：3051
4 Stamler JS, et al. Science 1992;258：1898
5 Nussler AK, et al, J Exp Med 1992;176：261
6 Moshage HJ, et, al. J Clin Invest 1987;79：1685
7 Billiar TR, et al. J Surg Res 1990;48：394
8 Curran RD, et al. J Exp Med 1989;170：1769
9 Curran RD, et al. FASEB J 1991;5：2058
10 Stadler J, et al. Am J Physiol 1991;260：c910
11 Brune B, et al. J Biol Chem 1989;264：8455
12 Laskin DL. Semin Liver Dis 1990;10：293
13 Billiar TR, et al. J Leukoc Biol 1990;48：565
14 Watkins PB. Semin Liver Dis 1990;10：235
15 Arthur MJP. J Hepatol 1988;6：125
16 Kanner J, et al. Arch Biochem Biophys 1991;289：130
17 Beckman JS, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87：162
18 Hibbs JBTr, et al. Biochem Biophy Res Commun 1988;157：8
19 Kubes P, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88：4651
20 Mulligan MS, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88：6338
21 Albina JE, et al. J Surg Res 1991;50：403
22 Vallance P, et al. Lancet 1989;2：997
23 Aisaka, et al. Biochem Biophys Res Commun 1989;163：710
24 Petros A, et al. Lancet 1991;338：1557
25 Miyase S, et al. Gastroenterol Jpn 1990;25：356
26 Pizcueta P, et al. Gastroenterology 1991;100：A785
27 Midgley s, et al. Lancet 1991;338：1590
28 Desmorat H, et al. Hepatology 1991;13：1181

(收稿日期　1994—01—20)