

一氧化氮与肺纤维化的研究进展

孙玉敏¹ 宋福成² 陈晓玲³

(1 沧州医学高等专科学校内科教研室 沧州 061001 2 武警 8642 部队卫生队 定州 072353

3 河北医科大学病理生理研究室 石家庄 050017)

摘要:肺纤维化是一组由多种因素引起的肺间质性病变,肺纤维化的发病机制迄今尚未完全清楚。近年来,发现在哺乳动物细胞的一氧化氮合酶催化合成的一氧化氮在肺纤维化的发生发展中发挥着重要的作用。因此,阐述一氧化氮与肺纤维化的关系,有着重要的理论意义和潜在的临床应用价值。

关键词:一氧化氮;一氧化氮合酶;肺纤维化

中图分类号:R563 **文献标识码:**B

Research progress on nitric oxide and pulmonary fibrosis

SUN Yu-min¹, SONG Fu-cheng², CHEN Xiao-Ling³

1 Medical Department of Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, China;

2 Hospital of Chinese People's Armed Police 8642 Forces, Dingzhou 072353, China;

3 Department of Pathophysiology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei, China

ABSTRACT: Pulmonary fibrosis is a set of pulmonary interstitial pathological changes caused by many factors. Its mechanisms are not fully understood. In recent years, some scholars discover that in mammal cells nitric oxide, catalyzed and synthesized by nitric oxide synthase, plays an important role in pulmonary fibrosis. So it is of important academic significance and potential clinical value to expound the relationship between nitric oxide and pulmonary fibrosis.

Key Words: Nitric oxide; Nitric oxide synthase; Pulmonary fibrosis

肺纤维化的发病机制极为复杂,至今未完全阐明,目前认为,它是一种以肺间质纤维化,细胞外基质沉积为特征,大量炎性细胞(包括巨嗜细胞、淋巴细胞、中性粒细胞及支气管、肺泡上皮细胞、成纤维细胞)都可分泌大量细胞因子,生长因子,粘附分子等构成一个巨大的炎症网络,它们相互作用,促进肺纤维化形成。研究表明,在肺纤维化的肺泡炎阶段,诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的 mRNA 过量表达,而且其半衰期特别长,一旦诱导合成,即可持续翻译合成一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS),催化 L-精氨酸产生过量一氧化氮(nitric oxide, NO),直至底物消耗尽。此种情况下,NO 可看成是一把双刃剑。一方面,它可起到有益作用(对抗支气管收缩,使肺血管舒张,增加肺内血流量,增进氧合作用;降低中性粒细胞聚集,抑制其过氧化作用和活力;抑制血小板聚集并解聚已聚集的血小板);而另一方面,不加控制的高水平 NO 对肺组织有害^[1]。

1 肺纤维化过程 NO 的生成量

肺纤维化过程包括肺组织的炎性损伤,组织结构破坏以及随后伴有肺间质细胞积聚的组织修复过程。对不同原因所致肺纤维化及其不同阶段 NO 的生成量,人们的认识存在分歧。陈晓玲等^[2]发现在博来霉素诱导大鼠肺纤维化过程中,肺内 NO 一过性增多;肺内 NO 含量的升高是出现在肺纤维

化形成早期,在胶原蛋白生成增多之前并延续到开始增多之时。此外还发现除注博来霉素 14d 增多外,注博来霉素 7d 和 30d 大鼠肺间质 iNOS 蛋白阳性表达的细胞也明显增多。这说明,在肺纤维化形成过程中始终有 iNOS 上调。Song L 等^[3]发现,放射致大鼠肺纤维化中 NO 含量减少,而 Giaid 等^[4]发现在放射致大鼠肺纤维化早期,iNOS 的表达增加并持续 1-3 个月。

2 肺纤维化过程 NO 生成的细胞机制

在不同原因所致肺纤维化形成过程中,肺炎细胞(主要为单核巨嗜细胞)、肺泡上皮细胞、肥大细胞、内皮细胞和肺间质细胞(如成纤维细胞、肌纤维母细胞)通过分泌细胞因子,炎症介质等生物活性物质,发挥直接或间接的作用,彼此相互影响。多种细胞共同构成一个复杂的肺细胞网络,其中以肺巨嗜细胞、肺泡上皮细胞及肺间质细胞在纤维化起始及进展过程中可能起最为关键的作用。已有文献报道,在内毒素和细胞因子的作用下,肺泡巨嗜细胞、动脉平滑肌细胞、气道上皮细胞、肺泡 II 型上皮细胞以及肺成纤维细胞内 iNOS 表达增强,生成大量的 NO^[2]。Nozaki Y 等^[5]证实,大鼠肺接受放射线照射后,肺泡巨嗜细胞和肺泡上皮细胞内 iNOS 的表达上调。

肺巨嗜细胞和成纤维细胞是纤维化形成的关键细胞。Quinlan 等曾报道用石棉刺激肺泡巨嗜细胞 24 小时,iNOS 的 mRNA 增加。Romanska^[6]等发现,成纤维细胞的形态与细胞内 iNOS 表达的变化有关,损伤初期,成纤维细胞形态“丰满”,其内 iNOS 表达较强,而损伤晚期的成纤维细胞形态“瘦长”,较弱。Giaid 等^[4]发现,大鼠在经放射线照射后 6 小时至 30 天,其肺泡巨嗜细胞内的 iNOS 表达,其中在照射后 24 小时表达最

作者简介:孙玉敏,(1975-),女,医学硕士。

主要研究方向:肺纤维化。

E-mail: symefc@163.com Tel: 0317-3598945

(收稿日期:2006-06-27 接受日期:2006-07-30)

强。这说明,NO在肺间质纤维化的发生发展特别是肺肺炎阶段起着重要作用。

3 NO 及其代谢产物参与肺纤维化损伤

3.1 NO 本身的危害

已知,博莱霉素致鼠肺纤维化是公认的肺纤维化模型。学者们经过实验研究总结出:NO在肺间质纤维化的发生发展特别是肺肺炎阶段起重要作用。NO的有害作用表现在:扩张血管,增加毛细血管后微静脉的渗出,加重炎症和组织水肿。NO细胞毒作用的生化基础是NO与呼吸链中顺乌头酸酶,线粒体呼吸链复合物I、II以及以及DNA合成中关键酶的活性部位的Fe-S基团结合,形成了铁亚硝酰复合物,引起酶中铁的丢失而破坏其活性,进而引起细胞毒作用;NO通过抑制核苷酸还原酶,损伤DNA合成;NO与细胞内的谷胱甘肽反应并耗竭谷胱甘肽,增加了细胞对氧化反应的敏感性。

3.2 过氧化亚硝酸根离子(ONOO⁻)的危害

NO在气体状态下能与超氧离子反应生成ONOO⁻和过氧化亚硝酸(ONOOH),ONOO⁻为强氧化剂,ONOOH具有细胞毒作用,均与肺组织损伤有关。

肺部的吞噬细胞在受到矽尘等外界因素的刺激时,同时产生NO和超氧离子(O₂⁻),这两种自由基一经生成,立刻发生反应形成ONOO⁻,将两个相对无毒性的自由基,转变成一个毒性更强的自由基。它能损伤细胞DNA,抑制线粒体呼吸过程,导致细胞凋亡;它通过脂质过氧化过程和对含巯基组分蛋白的氧化作用启动肺泡上皮细胞凋亡,破坏肺表面活性物质;特别是肺泡上皮细胞的损伤,使受损细胞直接接触成纤维细胞,因而使肺间质胶原生成增加,启动细胞纤维化。此外,ONOO⁻能消耗谷胱甘肽,谷胱甘肽的减少,更增强了ONOO⁻的自由基损伤。免疫组化染色表明,染矽尘大鼠肉芽肿周边区有硝基酪氨酸残基形成,它标志着ONOO⁻的形成,是氧化损伤的标志。Giald等^[4]通过实验检测大鼠受放射线照射后6个月内肺中iNOS和硝基酪氨酸的含量发现在肺泡巨噬细胞中6小时至30天增加,其中在照射后24小时最多;肺泡上皮细胞中iNOS和硝基酪氨酸出现在照射后15至30天;而在气道上皮细胞内直到照射后30天才只能检测到iNOS而无硝基酪氨酸;此外,照射后30天在肺血管内皮细胞中几乎没有iNOS和硝基酪氨酸。这说明,ONOO⁻、ONOOH是在肺纤维化的早期发挥作用。

4 NO 介导细胞的增殖和凋亡

肺细胞凋亡参与肺纤维化的起始和进展过程,特别是肺泡上皮细胞凋亡可能是疾病的早期事件^[4]。NO作为一种细胞信号分子能介导肺泡上皮细胞、肺泡巨噬细胞等细胞的增殖和凋亡来参与肺纤维化的形成。

4.1 NO与肺泡上皮细胞凋亡

研究表明^[5],iNOS和p53在肺部介导了一种新型的凋亡产生-抑制通路,详细的机制为NO控制p53的激活,而p53调节iNOS/NOS-2催化活性。这也说明NO与肺内细胞凋亡有密切的关系。最近研究结果显示,肺泡上皮细胞凋亡在肺肺炎/肺纤维化的发生与发展中可能起重要的作用。研究发

现,在博莱霉素作用下,肺泡上皮细胞凋亡增多,减少凋亡细胞数量则减轻了肺炎/肺纤维化病变程度。在人类肺纤维化疾病中也发现了相似的结果,特发性肺纤维化的肺泡上皮细胞中,电镜和DNA片断末端标记发现肺泡II型细胞凋亡明显增多。研究表明,在急性肺损伤病人,肺泡II型上皮细胞的凋亡增多,可直接导致肺泡塌陷,加速肺纤维化进展^[6]。

4.2 NO与肺泡巨噬细胞凋亡

肺泡巨噬细胞能合成和释放大量的具有多种生物活性的细胞因子前炎介质趋化因子及蛋白酶类等,在肺炎/肺纤维化发生发展过程中发挥及其重要的作用。肺泡巨噬细胞是矽尘的主要靶细胞,作为肺炎/肺纤维化过程中重要的效应细胞之一,巨噬细胞通过其产生的大量活性氧及细胞因子等使肺炎期血管通透性增强,细胞膜脂质过氧化损伤,肺成纤维细胞增殖,成纤维细胞合成胶原的能力增强^[7]。矽尘诱导巨噬细胞凋亡的机制受caspase介导,与活性氧有关^[8]。在肺内炎症和纤维增生初期,肺内iNOS阳性细胞增多,肺泡巨噬细胞释放NO的能力增强,iNOS的抑制剂氨基胍能使肺内NO的生成和胶原的生成都明显减少^[9]。已有实验证实,以硝普钠作为NO供体,硝普钠能明显促进肺泡巨噬细胞凋亡,而对增殖无明显影响,这说明外源性NO具有促进肺泡巨噬细胞凋亡的作用^[10]。有实验发现,注平阳霉素14天的大鼠,NO增多,肺间质巨噬细胞iNOS亦增多;注平阳霉素30天的大鼠,出肺血NO趋于恢复,肺巨噬细胞内iNOS虽有所恢复,但仍增多。这提示,NO可能是导致14天和30天大鼠凋亡肺泡巨噬细胞增多的原因之一^[11]。

4.3 NO对肺成纤维细胞凋亡的影响

肺成纤维细胞增殖和大量合成胶原纤维,是各种致病因素作用于肺产生肺纤维化的共同机制,肺成纤维细胞增殖和凋亡则是影响肺纤维化的重要环节,细胞的增殖和凋亡是不可分割的两个过程。凋亡抑制细胞过度增生也是清除增殖过程中不正常细胞的一种必要方式。已有研究结果显示^[12],一定量的外源性NO确实具有促进肺成纤维细胞增殖的作用。Hagimoto等^[13]发现,通过大鼠支气管注入能激活“死亡受体”Fas的抗体后,上皮细胞的凋亡增加,1周后检测到纤维化反应。用NOS的阻断剂L-NAME阻断细胞合成内源性NO后,肺成纤维细胞增殖受到抑制,而凋亡细胞明显增加,这说明内源性NO的生成是维持肺正常增殖和凋亡所必需的。增殖和凋亡的相互配合,不仅控制成纤维细胞的数量,而且调节肺肺炎/纤维化形成的速度。

5 结语

综上所述,NO及其代谢产物不仅能直接造成肺损伤,而且NO通过介导肺泡上皮细胞、巨噬细胞、成纤维细胞的增殖和凋亡,在肺纤维化的发生发展过程中发挥重要作用。NO的浓度是一个关键因素,一面是低NO水平,另一面是过低或过高NO水平可能代表NO的细胞保护性与细胞毒性双重作用的巧妙结合。但是,NO的过低水平、低水平(即生理性的)和高水平的界线还不明确,NOS、NO在肺纤维化中的作用机制还有待进一步研究。

(下转第118页)

插管时刺激咽后壁使迷走神经兴奋;重度中毒时,毒物对心脏的毒性作用;洗胃液过多,胃内压上升增加毒物吸收,兴奋迷走神经,引起反射性心脏骤停。插管时手法应轻柔,一次不成功休息几分钟后,避免长时间刺激咽后壁,注意观察患者的呼吸、心律等情况,及时应用药物治疗,必要时行气管插管后再洗胃,控制进胃和出胃的液量,保持液体的相对平衡。

参考文献

- [1] 周秀华.急救护理学.第1版.北京:北京科学技术出版社,1996:78
- [2] 童巧勤,舒建昌.浅谈提高洗胃效果的体会.国际医药卫生导报,2005,11(22):100
- [3] 庞继艾.双腔洗胃管用于小儿中毒抢救[J].中华护理杂志,2004,39(4):300
- [4] 方咏梅,王霞,张桂兰.洗胃胃管插入长度的护理研究[J].中华护理杂志,2001,36:536-537
- [5] 李惠章.小儿胃管长度的探讨[J].中华护理杂志,1995,30(4):195
- [6] 岳喜慧,尹向君.改良洗胃法救治急性有机磷农药中毒体会.中国中医急症,2005,14(11):1131
- [7] 马宏侠.一次性负压引流用于群体中毒洗胃[J].全科医生,2001,10(1):24
- [8] 王文珍,陈俐.国内口服药物中毒洗胃研究进展[J].现代护理,2003,9(1):27
- [9] 周丰美,冯志娟,鲍琴.华活性炭胃肠灌洗抢救重症有机磷农药中毒者的临床研究[J].实用护理杂志,2000,16(9):5-6
- [10] 姜淑梅,曲晓波,杨桂芝.小儿急诊洗胃的护理体会[J].齐齐哈尔医学院学报,2001,15(12):544
- [11] 张聪介.洗胃液的温度与洗胃效果的评价[J].实用护理杂志,1996,12(1):10
- [12] 徐梅玲,云荣,童丽灵.服毒病人反复洗胃导泻及灌肠效果与分析[J].实用护理杂志,2002,18(9):19
- [13] 杨玲玲.小儿急诊洗胃问题的探讨[J].实用护理杂志,1994,10(3):3-4
- [14] 徐慧,荆宝芳,聂清梅.小儿服毒的洗胃体会[J].现代中西医结合杂志,2001,10(18):1793
- [15] 周健利,丁毅黎.小儿自饮催吐洗胃的效果观察[J].山西护理杂志,1998,12(2):85
- [16] 周秀华.急救护理学.第1版.北京:北京科学技术出版社,1996:140
- [17] 牟灵英,谭桂兰,郝桂兰.药物中毒洗胃造成洗出液血性改变的探讨[J].护士进修杂志,2001,16(8):573-575
- [18] 姜学青,郭焕荣.急性中毒患者洗胃并发症19例原因分析及护理[J].齐鲁护理杂志,2006,12(2):252

(上接第106页)

参考文献

- [1] Genovese T, Cuzzocrea S, Paola RD, et al. Inhibition or knock out of inducible nitric oxide synthase result in resistance to bleomycin - induced lung injury[J]. Respir Res, 2005,6(1):58-63
- [2] 陈晓玲,李英敏,黄善生,等.诱导型一氧化氮合酶对肺纤维化形成的促进作用[J].中国病理生理杂志,2002,18(10):1251-1253
- [3] Song L, Wang D, Cui X, et al. Kinetic alterations of angiotensin-2 and nitric oxide in radiation pulmonary fibrosis[J]. J Environ Pathol Toxicol, 1998,17(2):141-150
- [4] Giaid A, Lehnert SM, Chehayeb B, et al. Inducible Nitric Oxide Synthase and Nitrotyrosine in Mice With Radiation - Induced Lung Damage[J]. American Journal of Clinical Oncology, 2003,26(4):67-72
- [5] Nozaki Y, Hasegawa Y, Takeuchi A, et al. Nitric Oxide as an inflammatory mediator of radiation pneumonitis in rats[J]. Am J Physiol, 1997,16:L651-8
- [6] Romanska HM, Ikonen TS, Bishop AE, et al. Up-regulation of inducible nitric oxide synthase in fibroblasts parallels the onset and progression of fibrosis in an experimental model of post-transplant obliterative airway disease[J]. J Pathol, 2000,191(1):71-77
- [7] Barbas - Filho JV, Ferreira MA, Sesso A, et al. Evidence of type II pneumocyte apoptosis in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)/usual interstitial pneumonia (UIP)[J]. J Clin Pathol, 2001,54(2):132-138
- [8] Davis DW, Weidner DA, Holian A, et al. Nitric oxide - dependent activation of p53 suppresses bleomycin - induced apoptosis in the lung[J]. J Exp Med, 2000,192(6):857-869
- [9] Fine A, Janssen - Heininger Y, Soultanakis RP, et al. Apoptosis in lung pathophysiology[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000,279(3):L423-427
- [10] Gao N, Keane MJ, Ong T, et al. Effects of phospholipid surfactant on apoptosis induction by respirable quartz and kaolin in NR8383 rat pulmonary macrophages[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2001,175(3):217-225
- [11] Shen HM, Zhang Z, Zhang QF, et al. Reactive oxygen species and caspase activation mediate silica - induced apoptosis in alveolar macrophages[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2001,280(1):L10-17
- [12] 陈晓玲,黄善生,王殿华,等.一氧化氮对大鼠肺泡巨噬细胞增殖、凋亡及细胞内 Bcl-2 和 Bax 含量的影响[J].中国病理生理杂志,2000,16(10):1101
- [13] 陈晓玲,黄善生,李文斌,等.大鼠肺纤维化形成中肺巨噬细胞增殖和凋亡的变化[J].中国病理生理杂志,2004,20(3):433-436
- [14] 胡静,徐启勇,李伯垣.一氧化氮合酶抑制剂对博来霉素所致肺损伤的影响[J].中华结核和呼吸杂志,1999,22(1):51-53
- [15] Griffith Liang, Alan H, Stephenson Andrew J, et al. Erythrocytes of humans with cystic fibrosis fail to stimulate nitric oxide synthesis in isolated rabbit lungs[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005,288:H1580-1585
- [16] Hagimoto BD. Apoptosis in lung fibrosis and repair[J]. Chest, 2002,122(6Suppl):S293-298