

- Treponema pallidum strains from patients with neurosyphilis in Pretoria, South Africa[J]. Sex Transm Infect, 2007, 83(3): 189-192.
- [14] Castro R, Prieto E, Aguas MJ, et al. Molecular subtyping of Treponema pallidum subsp. pallidum in Lisbon, Portugal[J]. J Clin Microbiol, 2009, 47(8): 2510-2512.
- [15] Wu H, Chang SY, Lee NY, et al. Evaluation of macrolide resistance and enhanced molecular typing of Treponema pallidum in patients with syphilis in Taiwan; a prospective multicenter study[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(7): 2299-2304.
- [16] Pillay A, Liu H, Ebrahim S, et al. Molecular typing of Treponema pallidum in South Africa; cross-sectional studies[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(1): 256-258.
- [17] Pope V, Fox K, Liu H, et al. Molecular subtyping of Treponema pallidum from North and South Carolina[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(8): 3743-3746.
- [18] Florindo C, Reigado V, Gomes JP, et al. Molecular typing of treponema pallidum clinical strains from Lisbon, Portugal[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(11): 3802-3803.
- [19] Cole MJ, Chisholm SA, Palmer HM, et al. Molecular epidemiology of syphilis in Scotland[J]. Sex Transm Infect, 2009, 85(6): 447-451.
- [20] Cruz AR, Pillay A, Zuluaga AV, et al. Secondary syphilis in Cali, Colombia; new concepts in disease pathogenesis[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2010, 4(5): e690.
- [21] Azzato F, Ryan N, Fyfe J, et al. Molecular subtyping of Treponema pallidum during a local syphilis epidemic in men who have sex with men in Melbourne, Australia[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(6): 1895-1899.
- [22] Tipple C, McClure MO, Taylor GP. High prevalence of macrolide resistant Treponema pallidum strains in a London centre[J]. Sex Transm Infect, 2011, 87(6): 486-488.
- [23] Tantaló LC, Lukehart SA, Marra CM. Treponema pallidum strain-specific differences in neuroinvasion and clinical phenotype in a rabbit model[J]. Infect Dis, 2005, 191(1): 75-80.
- [24] Giacani L, Hevner K, Centurion-Lara A. Gene organization and transcriptional analysis of the tprJ, tprI, tprG, and tprF loci in Treponema pallidum strains Nichols and Sea 81-4[J]. J Bacteriol, 2005, 187(17): 6084-6093.
- [25] 杨文林, 林文生, 杨健, 等. 梅毒血清固定与梅毒螺旋体 tpr 基因亚型关系的初步研究[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(16): 1821-1825.

(收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-10-29)

· 综 述 ·

## 超声激励微泡“空化效应”在肿瘤治疗方面的研究进展\*

刘娟综述, 吴凤林<sup>△</sup>审校

(南方医科大学南方医院超声诊断科, 广州 510515)

关键词: 超声学; 细胞凋亡; 栓塞; 血管; 肿瘤

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.03.040

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)03-0358-04

目前, 随着对微泡造影剂研究的深入, 超声激励微泡“空化效应”在疾病治疗中的作用越来越受到重视。所谓超声空化是指存在于液态物质中的微小气泡(空化核)在超声场的作用下被激发, 气泡不断地振动、膨胀、收缩乃至崩溃爆裂等一系列的动力学过程<sup>[1]</sup>。微泡造影剂作为一种人为的空化核, 可增加体内空化核的浓度, 增强空化效应, 并减少产生空化效应所需的超声能量。超声激励微泡“空化效应”可增加细胞膜通透性、增加细胞内药物浓度、介导基因转染、开放组织屏障、栓塞肿瘤滋养血管、促溶栓等, 具有安全、靶向、无创的特点, 已成为超声医学研究的热点。本文就该技术在肿瘤治疗方面的研究进展及存在的问题综述如下。

### 1 诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞增殖、侵袭及转移

细胞凋亡是一种凋亡相关基因调控的自身程序化死亡, 细胞凋亡失衡与肿瘤发生、发展有密切关系。超声能够诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制肿瘤细胞的增殖, 并且超声联合微泡造影剂能够增强超声诱导肿瘤细胞凋亡的作用, 并对肿瘤细胞的侵袭、转移有一定的抑制作用。胡劼等<sup>[2]</sup>通过体外实验证实, 新型多聚体微泡携带舒尼替尼在超声作用下对人肾癌 GRC-1 细胞生

长有明显抑制作用, 并诱导细胞凋亡。康娟等<sup>[3]</sup>报道载多西紫杉醇脂质超声微泡造影剂在超声作用下能延缓 VX2 肝癌的增殖、促进其凋亡, 对 VX2 肝癌具有显著的生长抑制作用。钟华等<sup>[1]</sup>通过体外实验证实了高机械指数超声造影增强其空化效应能改变微丝、微管的组装和分布, 对肿瘤细胞的侵袭、转移有一定的抑制作用。

另有文献报道, 低频超声不仅可以细胞毒作用直接杀伤肿瘤细胞, 而且可以在基因水平改变肿瘤细胞的生物学行为。Sergeeva 等<sup>[4]</sup>从卵巢癌患者腹水中提取卵巢癌肿瘤细胞(MCF-7)接受频率为 26.5 kHz 的低频超声处理 15 s, 实验结果显示, 处理组卵巢癌细胞出现细胞毒性作用, 且细胞增殖率下降显著, 而对照组中则未发现。Tabuchi 等<sup>[5]</sup>报道低频超声辐照肿瘤细胞后可以检测到肿瘤细胞 193 个基因下调和 201 个基因上调, 这些下调基因与细胞生长、增殖和基因表达有关, 且与细胞运动、多态性和死亡有关。李蓉等<sup>[6]</sup>研究表明超声辐照载紫杉醇脂质微泡(PLM)可显著抑制裸鼠 SKOV3 卵巢癌移植瘤的生长和发展, 其机制可能是通过抑制 P53 抑癌基因的突变, 下调了血管内皮生长因子(VEGF)的合成与分泌, 破

\* 基金项目: 2012 年广东省科技计划项目(2012B031800143) 作者简介: 刘娟(1983-), 医师, 在读硕士研究生, 主要从事超声医学的研究。

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel: 13710869359; E-mail: wuf1666@126.com。

坏并减少肿瘤血管再生,从而抑制肿瘤的生长。该方法的应用为卵巢癌提供了新的临床治疗途径。

## 2 化疗增敏效应及抵抗肿瘤细胞耐药性

随着对超声波生物学效应的阐明,超声被认为是一种化疗增敏剂<sup>[7]</sup>,它可协同化疗药物作用,增加肿瘤细胞对化疗的敏感性。有文献报道,高强度聚焦超声(HIFU)治疗后,位于治疗区边缘的肿瘤组织经低剂量超声照射后受到损伤,但未发生坏死,且对化疗药物的敏感性提高了,一些治疗前不敏感的化疗药物于治疗后变得敏感<sup>[8]</sup>。孙艳辉等<sup>[9]</sup>验证了低频低剂量超声能有效逆转 SKOV3/MDR1 细胞株的多药耐药性,其机制与降低细胞膜 P-糖蛋白(P-gp)的表达密切相关。该实验采用 MTT 法检测获得超声(0.3 MHz、1.0 W/cm<sup>2</sup>)辐照下逆转 SKOV3/MDR1 多药耐药的最适辐照时间,并采用免疫荧光法检测最适超声辐照前后多药耐药糖蛋白 P-gp 的表达变化,结果发现 40 s 为逆转肿瘤细胞多药耐药的最适超声辐照时间,最适辐照有效逆转了 SKOV3/MDR1 多药耐药性,显著降低了 P-gp 的表达。

## 3 增强抗肿瘤免疫力

近年来的研究表明,HIFU 技术不仅可以杀死局部肿瘤细胞,还能增强宿主的抗肿瘤免疫力<sup>[10]</sup>。周颢等<sup>[11]</sup>采用 HIFU 肿瘤治疗系统(焦距 110 mm、频率 0.8 MHz、时间 80 s、声强 1 054 W/cm<sup>2</sup>)制备的 HIFU 瘤苗明显增强了小鼠抗同源肿瘤的免疫力。该实验结果显示,HIFU 瘤苗组小鼠肿瘤发生率减低,生存期延长;淋巴细胞在同源肿瘤刺激下增殖明显,细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)对肿瘤细胞有特异性的杀伤,且比高温瘤苗组有更高的增殖率和杀伤率。熊希等<sup>[12]</sup>报道,相对于聚焦超声一次辐照治疗和假照治疗,聚焦超声二次辐照治疗小鼠宫颈癌 U14 移植瘤后,对再次接种同种肿瘤的抑瘤率更高,体外脾淋巴细胞对同源肿瘤的杀伤活性更强,机体发挥了更强的特异性抗肿瘤免疫作用。夏纪筑等<sup>[13]</sup>通过实验观察到 HIFU 治疗 H22 移植性肝癌后,活化的 CTL 细胞能到达同种荷瘤鼠肿瘤局部,并与肿瘤细胞特异性结合,发挥特异性抗肿瘤作用。

HIFU 灭活的肿瘤细胞能诱导小鼠产生抗肿瘤免疫力的机制尚不清楚。但研究表明死亡细胞能否激活机体免疫与细胞死亡时某些物质的释放有关,这是一些被称作“危险信号”或“损伤相关分子形式”的物质<sup>[14-16]</sup>,如热休克蛋白、核苷酸、钙网蛋白等,它们在细胞非正常死亡时释放,作为“危险信号”活化抗原提呈细胞进而激活免疫。文献报道 HIFU 辐照促使细胞释放腺苷三磷酸(ATP)、乳酸脱氢酶(LDH)、热休克蛋白 60(HSP60)等“危险信号”<sup>[17]</sup>,HIFU 毁损的乳腺癌组织也表达 HSP70<sup>[18]</sup>,这可能是 HIFU 灭活细胞能激活免疫的原因。也有研究指出聚焦超声的热效应、机械效应及空化效应可使胞浆细胞核内的抗原暴露,致细胞膜流动性增加,加深了机体对肿瘤组织的免疫反应或通过改变抗原空间构象,使免疫原性发生改变,从而增强宿主对抗原识别能力<sup>[10]</sup>。

## 4 介导肿瘤微血管栓塞或抗肿瘤血管生成

肿瘤的生长及转移依赖于新生血管形成,肿瘤新生血管发育不完全、结构薄弱、通透性高,对各种理化因素的作用比较敏感,这使得采用微泡增强的超声空化效应破坏肿瘤新生血管,从而导致肿瘤缺血、缺氧,促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤生长,阻止其向身体其他部位转移成为可能。Gao 等<sup>[19]</sup>报道微泡增强的高压振幅聚焦超声可引起肝脏微血管破裂、出血及肝细胞肿胀等急性微血管损伤,从而短暂性阻断肝脏局部血流灌注。Liu 等<sup>[20]</sup>指出微泡增强的超声空化效应提供了一种新的抗肿瘤血管生成的物理治疗方法,该方法具有很大的潜在临床应用

价值。该实验观察到,采用声压为 4.8 MPa 的高压振幅脉冲式超声联合静脉注射脂质微泡产生空化效应可完全阻断肿瘤微循环达 24 h,肿瘤微血管结构遭到破坏,形成弥漫性水肿,并伴随微血栓、细胞间水肿及大量囊泡产生,导致大量肿瘤细胞坏死。Hwang 等<sup>[21]</sup>研究表明微泡造影剂在低频低功率超声辐照下能够破坏血管内皮层,进而导致血栓表面暴露,促使血栓形成活化,此作用限制了特定部位的血流,能够阻断恶性肿瘤组织的血供,引起肿瘤的血管栓塞。

## 5 介导基因转染、药物传输及肿瘤的靶向治疗

为了最大限度地提高化疗药物对肿瘤组织的杀伤力,降低其毒副作用,近年来对靶向微泡的研究应用非常活跃<sup>[22-23]</sup>。在超声辅助化疗或靶向治疗时,微泡作为药物载体或与药物混同给药<sup>[24]</sup>,有助于超声介导、定点治疗,同时微泡还能与其他治疗方法结合。研究表明,微泡在超声作用下产生共振,导致了细胞膜紊乱,从而加强了大分子入胞作用,允许其被转运;微泡击破产生微射流和冲击波反过来引起小孔,这些孔足以使大分子颗粒及基因进入细胞<sup>[25]</sup>。但也有文献报道质膜形成暂时微孔只适合细胞摄取小分子(<70 kPa),而细胞摄取大分子(70~500 kPa)的介导主要是通过入胞作用实现的<sup>[26]</sup>。孔径范围为 30~100 nm,最大的为几微米,它们具有短暂性质,几秒或几分钟后,在 Ca<sup>2+</sup> 和 ATP 的作用下通过内生囊泡修复反应关闭<sup>[27]</sup>。

基于此,微泡作为化疗药物的载体,在超声作用下使靶细胞膜的通透性暂时增加并且有助于化疗药物进入靶细胞内,增加化疗药物的局部浓度并减少不良反应。张海等<sup>[28]</sup>自制包裹绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)并携有前列腺癌雄激素受体抗体的聚乳酸/乙醇酸共聚物(poly(lactic/polyglycolic acid,PLGA)纳米粒(nano polymers,NPs)结合前列腺癌 PC4-2 细胞,利用超声治疗仪进行体外辐照,结果显示超声辐照对 NPs 有体外促降解及靶向控释 DNA 作用,达到靶向抑癌目的。黄品同等<sup>[29]</sup>通过血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)高表达的结肠癌皮下种植瘤 Balb/C 裸鼠体内实验,观察到靶向 VEGFR2 脂质微泡能增强超声空化对结肠癌的治疗效果,且较普通微泡去空化效果更佳。Duvshani-Eshet 等<sup>[30]</sup>运用治疗性超声辐照前列腺癌细胞 20 min,使其进行有效转染,并通过体内实验将 PEX 传输到肿瘤细胞中,结果显示肿瘤细胞的增殖受到抑制并诱导其发生凋亡。Emoto 等<sup>[31]</sup>研究表明,在超声辐射下将携带血管生成抑制剂 TNP-470 的微泡定位于肿瘤血管内皮细胞上,其抗肿瘤的效果明显增强。廖永玲等<sup>[32]</sup>通过体内研究证实,超声辐照携带促黄体生成素释放激素类似物的靶向微泡,能显著增强顺铂(DDP)对人卵巢癌耐药细胞 A2780/DDP 裸鼠腹腔移植瘤的抑制作用,并通过下调基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)表达,降低肿瘤细胞的侵袭、转移能力。

## 6 展 望

利用超声联合微泡治疗肿瘤还处于实验阶段,仍有较多问题亟待解决:(1)靶向性及稳定性。加强微泡与配体的结合力以及配体与受体之间的结合强度,是微泡具有靶向性的基础。靶向微泡的构建步骤繁琐而费时,其稳定性及体内寻靶效率均有待提高。因此,如何提高微泡载药或基因效率,如何提高微泡在循环中运行的稳定性,如何延长微泡停留在感兴趣区时间,以及如何有效地控制释放时机等是我们需要解决的重要问题。(2)安全性。超声在杀死肿瘤细胞的同时也会对邻近细胞和组织造成伤害。许多体内、外实验表明<sup>[33-34]</sup>,微泡存在时,经超声照射的组织可出现溶血、微血管渗漏、毛细血管破裂、肌钙

蛋白-T 增高、心肌损伤, 短暂影响左室功能。(3) 优化参数。超声辐照参数的优化(包括辐照时间、声频率、强度、占空比、脉冲重复频率、超声波发射方式、超声仪器类型等); 微泡种类、浓度及注射方式的优化等。

虽然超声激励微泡“空化效应”在肿瘤治疗方面的应用仍存在许多问题, 但不可否认, 该技术的确是一种具有广阔应用前景的无创治疗肿瘤的物理方法, 是超声医学领域中发展较快的研究热点之一。随着技术的发展和研究的不断深入, 该方法将在临床或基础研究中得到广泛的运用, 具有重要的应用价值。

#### 参考文献:

- [1] 钟华, 李锐, 郭燕丽, 等. 高机械指数超声辐照微泡对结肠癌细胞骨架的影响[J]. 中华超声影像学杂志, 2011, 20(11): 996-999.
- [2] 胡劼, 宗瑜瑾, 宋宏萍, 等. 新型多聚体微泡携带舒尼替尼抑制人肾癌 GRC-1 细胞生长及促凋亡的实验研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2012, 21(7): 621-624.
- [3] 康娟, 吴小翎, 张勇, 等. 载多西紫杉醇脂质超声微泡造影剂对兔 VX2 肝癌增殖和凋亡的作用[J]. 中国超声医学杂志, 2009, 25(7): 642-645.
- [4] Sergeeva NS, Sviridova IK, Nikolaev AL, et al. Effects of various modes of sonication with low frequency ultrasound on in vitro survival of human tumor cells[J]. Bull Exp Biol Med, 2001, 131(3): 279-282.
- [5] Tabuchi Y, Takasaki I, Zhao QL, et al. Genetic networks responsive to low-intensity pulsed ultrasound in human lymphoma U937 cells[J]. Cancer Lett, 2008, 270(2): 286-294.
- [6] 李蓉, 周琦, 王志刚, 等. 超声联合载药微泡对卵巢癌移植瘤的抑瘤作用及对 P53, VEGF 表达的影响[J]. 中国超声医学杂志, 2010, 26(6): 500-503.
- [7] Yu T, Li SL, Jz Z, et al. Ultrasound: a chemotherapy sensitizer[J]. Technol Cancer Res Treat, 2006, 5(1): 51-60.
- [8] Rapoport N. Combined cancer therapy by micellar-encapsulated drug and ultrasound[J]. Int J Pharm, 2004, 277(1/2): 155-162.
- [9] 孙艳辉, 蒲从伦, 金先庆, 等. 低频低剂量超声逆转卵巢癌细胞多药耐药及机制研究[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(9): 784-786.
- [10] Wu F, Wang ZB, Lu P, et al. Activated anti-tumor immunity in Cancer patients after high intensity focused ultrasound ablation[J]. Ultrasound Med Biol, 2004, 30(9): 1217-1222.
- [11] 周颢, 苏立, 傅敏, 等. 高强度聚焦超声制备肿瘤疫苗对小鼠抗肿瘤免疫增强作用的研究[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(7): 591-594.
- [12] 熊希, 彭斌, 林川, 等. 聚焦超声二次辐照治疗小鼠宫颈癌 U14 移植瘤后对机体特异性抗肿瘤免疫功能的影响[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(2): 110-113.
- [13] 夏纪筑, 丁炎, 曹友德, 等. 过继免疫超声消融后的 CTL 细胞在荷瘤鼠肿瘤局部的特异性表达[J]. 中国超声医学杂志, 2010, 26(6): 481-484.
- [14] Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self[J]. Science, 2002, 296(5566): 301-305.
- [15] Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, et al. Immunogenic and tolerogenic cell death[J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(5): 353-363.
- [16] Tesniere A, Panaretakis T, Kepp O, et al. Molecular characteristics of immunogenic Cancer cell death[J]. Cell Death Differ, 2008, 15(1): 3-12.
- [17] Hu Z, Yang XY, Liu Y, et al. Release of endogenous danger signals from HIFU-treated tumor cells and their stimulatory effects on APCs[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 335(1): 124-131.
- [18] Wu F, Wang ZB, Cao YD, et al. Expression of tumor antigens and heat-shock protein 70 in breast Cancer cells after high-intensity focused ultrasound ablation[J]. Ann Surg Oncol, 2007, 14(3): 1237-1242.
- [19] Gao Y, Gao S, Zhao B, et al. Vascular effects of microbubble-enhanced, pulsed, focused ultrasound on liver blood perfusion[J]. Ultrasound Med Biol, 2012, 38(1): 91-98.
- [20] Liu Z, Gao S, Zhao Y, et al. Disruption of tumor neovasculature by microbubble enhanced ultrasound: a potential new physical therapy of anti-angiogenesis[J]. Ultrasound Med Biol, 2012, 38(2): 253-261.
- [21] Hwang JH, Brayman AA, Reidy MA, et al. Vascular effects induced by combined 1-MHz ultrasound and microbubble contrast agent treatments in vivo[J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(4): 553-564.
- [22] 伍星, 王志刚, 李攀, 等. 叶酸靶向超声造影剂的制备及体外寻靶实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2009, 25(3): 217-219.
- [23] Pochon S, Tardy I, Bussat P, et al. BR55: a lipopeptide-based VEGFR2-targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of angiogenesis[J]. Invest Radiol, 2010, 45(2): 89-95.
- [24] Hernot S, Klibanov AL. Microbubbles in ultrasound-triggered drug and gene delivery[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(10): 1153-1166.
- [25] Walton CB, Shohet RV. Tiny bubbles and endocytosis? [J]. Circ Res, 2009, 104(5): 563-565.
- [26] Meijering BD, Juffermans LJ, van Wamel A, et al. Ultrasound and microbubble-targeted delivery of macromolecules is regulated by induction of endocytosis and pore formation[J]. Circ Res, 2009, 104(5): 679-687.
- [27] Tinkov S, Bekeredian R, Winter G, et al. Microbubbles as ultrasound triggered drug carriers[J]. J Pharm Sci, 2009, 98(6): 1935-1961.
- [28] 张海, 李莹, 李富荣, 等. 超声辐照纳米聚集体外控释 DNA 效果的研究[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(9): 773-777.
- [29] 黄品同, 叶智敏, 朱江, 等. 超声破坏靶向 VEGFR2 微泡治疗皮下结肠癌移植瘤的实验研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2012, 21(3): 253-256.
- [30] Duvshani-Eshet M, Machluf M. Efficient transfection of tumors facilitated by long-term therapeutic ultrasound in combination with contrast agent: from in vitro to in vivo setting[J]. Cancer Gene Ther, 2007, 14(3): 306-315.
- [31] Emoto M, Tachibana K, Iwasaki H, et al. Antitumor

effect of TNP-470, an angiogenesis inhibitor, combined with ultrasound irradiation for human uterine sarcoma xenografts evaluated using contrast color Doppler ultrasound[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(6): 929-935.

[32] 廖永玲, 孙江川, 常淑芳, 等. 超声辐照 LHRHa 靶向微泡增强顺铂对卵巢癌移植瘤的抑制作用[J]. *中国超声医学杂志*, 2011, 27(8): 680-683.

[33] Vancraeynest D, Havaux X, Pasquet A, et al. Myocardial injury induced by ultrasound-targeted microbubble de-

struction; evidence for the contribution of myocardial ischemia[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(4): 672-679.

[34] Miller DL. Overview of experimental studies of biological effects of medical ultrasound caused by gas body activation and inertial cavitation[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2007, 93(1/3): 314-330.

(收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-11-20)

· 综 述 ·

## 氦气的细胞学作用研究进展\*

李 雪 综述, 史 源<sup>△</sup> 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所儿科, 重庆 400042)

关键词: 氦; 细胞学; 血液动力学; 再灌注损伤; 细胞保护

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2014. 03. 041

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)03-0361-04

氦气可减轻心肌细胞和神经细胞缺血再灌注后的损伤<sup>[1-2]</sup>, 尽管氦气介导的细胞保护作用机制仍未阐明, 但其部分信号传导通路已被证实。除通过不同的预处理和后处理方式发挥心、脑保护作用之外, 氦气对肺、免疫系统及血管系统也有一定的保护作用<sup>[3-5]</sup>。氦气在人体内发挥了一定的生物学作用, 但其确切作用机制尚需阐明。氦气有诸多特殊的理化性质, 且并无血流动力学的副作用, 这使其在危重患者中可能存在潜在的应用前景。本文对氦气的细胞学作用研究进展予以综述。

### 1 氦气的理化性质

氦是最轻的惰性气体, 在所有元素中熔点和沸点最低, 且其密度和黏度均低于氧气和氮气。气体在呼吸道中的流速主要受其密度和黏度影响, 故氦气特殊的物理性质使其可降低呼吸道阻力, 促进肺部的气体交换。氦气的热传导性较高, 当机体被氦气环绕时热量丢失会增多。低体温可使生物的新陈代谢率降低, 将机体置入氦气环境中时, 可以降低能耗<sup>[6]</sup>。在一项大鼠实验中, 吸入 75% 的氦气就可以诱导低体温症的发生<sup>[7]</sup>, 但人类吸入氦气导致低体温症尚未被报道。

### 2 氦气生物学作用可能的机制

由 Meyer-Over-ton 准则可知: 药物的麻醉效能几乎和脂水分系数成线性相关, 因此可以推测在脂肪和水中溶解度均较低的惰性气体麻醉学效应也降低。但这个原则只对氦气适用, 氙气和氡气有所不同。

提高通气压力可使氦气在脂肪中的溶解度提高, 从而保证有足够的氦气进入中枢神经系统中。然而, 将一定气压的氦气应用于大鼠可观察到其发生抽搐和惊厥, 这更像是中枢神经系统的激活而不是神经细胞活动被抑制的表现<sup>[8]</sup>。标记的氦气并未像预测的那样产生麻醉作用, 而只诱导了惊厥的发生。而蛛网和大鼠暴露于静水或气体压力后其全身麻醉作用被逆转证实了压力本身即存在着对抗作用<sup>[9]</sup>, 故高压条件下氦气不大可能产生抑制作用。然而, 只有对氦气的高压和高压本身进行直接的对比才能阐释这个现象。实际上, 很有可能是氦气缩短了惊厥的持续时间, 降低了惊厥的发作频率。

惰性气体的生物学作用曾归结于对细胞溶质中的蛋白和膜结合蛋白产生直接或间接的作用, 但这些细胞学作用背后确切的机制或者说压力在其中的作用至今仍不清楚, 而氦气对脑组织及全身各器官发挥生物学作用的机制也尚不明确。

### 3 氦气介导的器官保护作用

**3.1 心脏** 短时间缺血造成的心肌损伤是可以早期预处理或者晚期预处理被修复的<sup>[9]</sup>, 除缺血之外, 具有药理学作用的化合物也可以触发缺血调节的信号级联反应, 从而介导细胞保护作用。

在一项对家兔的研究中, 分 3 个周期使其吸入 5 min 70% 的氦气、氙气及氡气混合气(均与 30% 的氧气混合), 由混合气中的惰性气体进行冲刷间隔 5 min; 或者使家兔短暂局部缺血 5 min、再灌注 5 min 作为间隔, 证明了在构建家兔缺血再灌注损伤模型前, 进行惰性气体预处理后可观察到心肌梗死面积缩小<sup>[10]</sup>。

在氦气介导的早期预处理(early preconditioning, EPC)过程中, 选择性抑制剂如磷脂酰肌醇酶-3、细胞外信号调节激酶和 70-kDa 核糖体蛋白 S6 激酶等的使用可抑制氦气的心脏保护作用<sup>[10]</sup>。而阻断糖原合酶激酶或凋亡蛋白 P53 后可降低氦气 EPC 的阈值。1 个周期的氦气预处理加上糖原合酶激酶或凋亡蛋白 P53 抑制剂, 与使用 3 个周期的氦气相比, 减小的心肌梗死面积相似<sup>[11]</sup>。不仅抑制糖原合酶激酶或凋亡蛋白 P53 路径可以降低氦气 EPC 的阈值, 使用吗啡也可以降低其阈值, 吸入 5 min 氦气并加用吗啡后, 其减少梗死面积的作用与使用 3 个周期氦气相当<sup>[12]</sup>。与之前的一项研究相比<sup>[11]</sup>, 单独使用 1 个周期的氦气减少梗死面积的作用并没有明显优于对照组。而运用非选择性的阿片类受体拮抗剂可阻止梗死面积的减少<sup>[12]</sup>, 这表明再灌注损伤激酶信号通路和阿片类受体调节机制可能参与了氦气介导的预处理过程。

有研究认为, 氦气的预处理通过细胞外信号因子如激酶 1/2、磷脂酰肌醇酶-3/Akt 激酶和糖原合成酶激酶 3-β 等影响了心肌线粒体的功能<sup>[13]</sup>。线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的开放可导致线粒体