

therapy[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(3):1037-1042.

- [37] Zhang KG, Qin CY, Wang HQ, et al. The effect of TRAIL on the expression of multidrug resistant genes MDR1, LRP and GST- π in drug-resistant gastric Cancer cell SGC7901/VCR[J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(120):2672-2676.
- [38] Sun J, Yeung CA, Co NN, et al. Clitocine reversal of P-glycoprotein associated multi-drug resistance through down-regulation of transcription factor NF- κ B in R-HepG2 cell line[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8):e40720.
- [39] Cai XH, Chen BA, Cheng J, et al. Effects of 5-bromotet-

randrine and daunorubicin on apoptosis and expression of survivin in K562/A02 cells[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2011, 19(1):24-27.

- [40] Ling X, He X, Apontes P, et al. Enhancing effectiveness of the MDR-sensitive compound T138067 using advanced treatment with negative modulators of the drug-resistant protein survivin[J]. *Am J Transl Res*, 2009, 1(4):393-405.

(收稿日期:2013-10-08 修回日期:2013-12-01)

· 综 述 ·

一氧化碳的细胞保护作用及其在临床应用中的研究进展

王 灿,汪 丽综述,史 源[△]审校
(第三军医大学大坪医院儿科,重庆 400042)

关键词:作用机制;细胞保护;肺损伤;缺血再灌注

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.06.045

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)06-0751-03

一氧化碳(carbon monoxide, CO)这种双原子气体,近年来被证实对于体内某些病理情况有着细胞保护作用或诊断价值,其体内主要来源于血红素裂解产物。诸如体内肺损伤所致炎症,CO可减少炎症因子产生从而抗炎;体内细胞凋亡,CO可通过抑制活性氧而阻止细胞死亡;此外,可通过降低炎症因子而对缺血再灌注有保护作用,从而可用于保护器官移植;还可通过测定CO浓度而体现危重病严重程度,从而用于重症监护室危重病的监测;基于这些作用,CO对一系列疾病有治疗或诊断作用。现针对其细胞保护作用及其在临床中的应用若干进展作一综述。

1 CO的来源和作用机制

1.1 CO的来源 以往对CO普遍认识是被认为是一种可燃气体,这种双原子气体作为一种血液中的潜在的化学窒息剂。来自自然界的不完全燃烧和汽车废气中以及吸烟均可以产生CO,它可以跟血红蛋白结合,阻止血红蛋白与氧结合,使血液丧失运输氧的功能。因此,早期对CO研究也主要是聚焦在其导致的组织缺氧而产生的毒性上^[1]。在20世纪中叶,对CO的研究已经证实,它是一种氧化血红素代谢的内源性产品,体内主要来源于血红素裂解。机体由于重金属暴露,氧化应激,热应激,炎症细胞因子的诱导,导致体内血红素加氧酶(HO)激活,血红素加氧酶尤其是HO-1作为血红素裂解的限速酶,可催化血红素从而有序的释放CO、胆绿素、游离铁^[2-4]。这即为内源性CO的主要来源,是体内CO产生细胞保护作用的基本。

1.2 CO在细胞保护中的作用机制 最近一些研究表明,低浓度CO可能会出现细胞保护功能,其中CO给予保护的几个组织损伤模型包括高氧肺损伤;肺,心脏,肾脏,和胃肠道缺血再灌注(I/R)损伤^[5-6];移植的心脏^[7];肝功能障碍^[8]和小肠移植失败等^[9-10]。

CO被证明在调节血管张力中发挥重要作用,它通过激活可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)产生环磷酸鸟苷(cGMP),从而升高cGMP水平引起平滑肌松弛^[11-12]。这种刺激sGC和提高

cGMP水平行为影响细胞功能,如离子通道,磷酸二酯酶和蛋白激酶^[13]。因此,该sGC/cGMP通路形成HO-CO内源性系统的一个重要组成部分,且可能是CO参与调解一些抗炎作用的一种分子机制。除了上述sGC/cGMP通路机制,CO还作用于多个含血红素蛋白靶点的酶,从而对调制炎症,氧化应激和细胞凋亡产生重要的影响。这些酶包括烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶,细胞色素P450,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)。例如,CO通过与酶上的血红素蛋白靶点结合,抑制可能导致生成活性氧(ROS)的细胞色素c氧化酶的产生,以维持细胞三磷酸腺苷水平和增加线粒体膜电位^[14],从而发挥其细胞保护作用;此外,通过某种复杂的过程CO能抑制细胞色素P450和NADPH氧化酶。即CO的靶点可能是参与细胞自由基生产,氧化应激,和氧化应激诱导细胞凋亡的多种酶^[15]。通过抑制此类导致体内产生自由基等对机体的有害因子的酶,和激活半胱天冬酶这类对细胞有保护作用的酶,从而对某些机体病理状况下起到细胞保护作用。CO还有一个重要的下游靶点是转导氧化应激和炎症信号通路的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联^[16],即对促炎细胞因子如TNF- α 、IL-1B^[17]释放所需的MAPK通路的抑制。由此可见,由HO-1所催化的内源性CO,对细胞的保护作用如抗炎、抗增殖和凋亡与其在体内的多种酶上的靶点有关,这些酶与自由基生产,氧化应激,和氧化应激诱导细胞凋亡有关。通过作用于此类酶的靶点,发挥其生理和病理的有效作用。这也是作为以后研究其在动物或者临床上效益作用的基础。

2 CO在肺损伤中的作用机制及其可能的不良反应

2.1 CO在肺损伤中的作用 CO在肺疾病一个作用是对肺部炎症损害的保护作用。有研究表明,吸入CO对体内肺损伤和炎症模型的有效性,这些炎症损伤可通过博莱霉素,产花粉植物、酸刺激等引起。实验通过对肺部有炎症的小鼠吸入CO,从而研究其产生的疗效和安全性,结果表明24h吸入CO 100 ppm或更多能降低肺泡内40%~50%的中性粒细胞浸润,其机制可能是由于阻止了中性粒细胞从骨髓动员。

此外,CO 在急性肺损伤诸如发生于高氧、败血症或在不适的机械通气,即呼吸机所致肺损伤(VILI),急性肺损伤(ALI)和其更严重形式的急性呼吸窘迫综合征(ARDS),以及 I/R 引起的肺损伤也适用。许多实验研究表明,CO 对各种类型的组织损伤的进程是有好处的,尤其是当其在 250~400 ppm 范围内的低剂量吸入是有效的,CO 有抗炎、抗纤维化和抗凋亡作用。由此可见,吸入剂用于治疗肺疾病显然有很大的潜力。

尽管有实验表明,CO 对肺损害情况有保护效应,但尚存在争议。Clayton 等^[18]发现,吸入 CO 没有明显减轻在大鼠模型中由高氧引起的肺损伤,研究建立了 3 种不同的小鼠急性肺损伤体内模型,并用呼吸机运送预混合的 500 ppm CO/O₂ 混合气进入动物肺部进行实验观察 CO 的保护作用,但实验结果表明吸入 CO 在这些模型里对 ALI 并没有好处^[19]。此外,迄今的人类研究涉及健康志愿者和慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者,也表明吸入 CO 在减轻肺部炎症上没有显著好处。这些明显的矛盾可能反应,对于认识 CO 作用机制还有差距。也可能表明,CO 的疗效局限于特定物种和(或)损伤/炎症的病因,或者对于 CO 治疗潜力的剂量使用和时间控制方面关注得还不够,需要进一步的实验研究以揭示矛盾背后的真相。

2.2 CO 在肺损伤的作用机制及可能的不良反应 动物实验数据显示,吸入 100 ppm CO 对减少肺损伤引起的肺内中性粒细胞聚集是有效地,这是通过一种新的机制:即与从骨髓动员白细胞的减少有关。此外,动物实验研究表明,吸入低剂量 CO 从而对肺损伤产生保护是通过其抗氧化、抗炎、抗凋亡和上调 HO-1 表达而引起的。具体的细胞机制可见上述 CO 在细胞保护作用中的机制。

然而,CO 在保护肺损伤的同时,其不良反应也被重视。研究表明,500 ppm CO 暴露可产生重大不良反应。研究表明,CO 作为一种细胞保护作用的气体,具有抗炎、抗增殖和凋亡的作用,但是有严格的条件限制,包括其使用的治疗剂量、治疗暴露的时间等,因此必须考虑其安全性,即对其毒性应严格控制。实验表明,增加 CO Hb 水平到 10%(正常:非吸烟者健康者小于 2%~3%)可引起急性临床症状,如呼吸困难,头晕,和头痛。水平高于 30%能导致中毒和恶心,呕吐,晕厥和心律失常的症状。长期暴露于 50%是致命的。此外,即便使用低于一般用于临床前研究 CO 的剂量,甚至 100 ppm CO 单独使用,似乎也会导致肺血管内皮/上皮细胞屏障通透性增加,这说明,CO 治疗肺炎症和肺损伤可能是有效的,但治疗时间窗可能较小。这些研究结果提供了一个警示:即使低剂量 CO 在肺部也存在潜在的不良影响。当 CO 作为治疗临床病理状态时,更应该考虑其条件的限制和毒性机制。

3 CO 在 I/R 和器官移植中的作用

目前,器官移植是治疗很多器官衰竭末期的惟一选择,然而排除供体器官的可用性等因素,就算是很理想的供体器官在受体内遭受 I/R 损伤,也没有办法对其提供最佳的保护。因此,在术后早期移植的器官频繁宣布失败,主要是由于非特异性器官损伤或由于复杂的细胞和体液免疫反应所导致。其中,氧自由基和某些细胞因子是供体保存、再灌注损伤和在急性和慢性排斥反应中有牵连的效应机制^[20-21]。本文上述所说,CO 对氧自由基和某些导致机体损害的细胞因子有抑制作用,因而也可以想到 CO 在 I/R 损伤和器官移植中有可能的作用。实际上,已经有了部分临床前实验研究表明,CO 对机体器官移植术后的生存和保健有好处,CO 通过增加 HO-1 的产生,从而抑制免疫反应而延长移植的存活率;肝脏、肾脏、肺脏移植以及

小肠移植后,通过吸入 CO 而降低促炎因子而改善 I/R 损伤。

结合上述的临床前研究,目前关于 CO 对移植的作用及应用,已展开了进一步的临床研究,患者接受肾移植,当对其进行吸入气的管理时,评价增加 CO 的剂量水平时安全性和耐受性。由此可见,CO 对 I/R 和器官移植有保护作用,且已经有进入临床实验的报道。

4 CO 的诊断价值

对于 CO 在临床上的诊断价值,主要是通过呼出 CO 的监测,从而反映体内疾病过程的严重度和治疗进程,可用于多种疾病的诊断,有其特殊的临床诊断价值。

呼出 CO 测定是一个非侵入性工具,它可能反映了系统性和肺部的内源性 HO 表达和 CO 产生的动力学。有研究通过在哮喘患者和非吸烟者和吸烟健康对照组中的肺活量演习测量呼出 CO 浓度^[22],显示哮喘患者呼出高量的 CO,经过糖皮质激素治疗后呼出的 CO 量随之降低,这表明测量呼出的 CO 量可能反映哮喘肺的炎症状态。对于患有急性哮喘和急剧加重的囊性纤维化而需要紧急治疗的患者,他们呼出 CO 是升高的,这也表明呼出 CO 是气道炎症较好的生物标志物。尽管也有研究表明,呼出一氧化氮(NO)比呼出 CO 是气道炎症更好的生物标志物,但呼出的 CO 仍然是另外一种有效的生物标志物,特别是对于儿童疾病方面的应用,非侵入性的测量呼出 CO 可作为评估儿童哮喘控制的补充手段,研究表明 CO 水平升高是非特异性的,可能与一种急性病毒疾病相关^[23]。对于支气管扩张症课题的研究中,提示呼出的 CO 也是增加的^[24]。上述测量是在不考虑任何抗感染治疗情况下实施的,可以反映这些患者的炎症气道中巨噬细胞和中性粒细胞产生的炎症细胞因子或者超氧阴离子可能诱导 HO-1 的表达,即增加 CO 的产生。因此,呼出 CO 在提示肺部炎症状态有很好的标志作用。CO 的升高而也可以作为慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性发作的一个很好的指标^[25]。在对危重患者呼出的 CO 的测量表明,危重病患者体内血红素分解增加了,它被呼出的 CO 所监测出来,其呼出气中的 CO 浓度可能反映出疾病的严重程度。因此,呼出的 CO 也可用作重症监护治疗的测定指标。

5 CO 的临床治疗前景

基于上述对 CO 在体内的细胞保护作用的描述,可知其适用于临床疾病有脏器损伤所致炎症;再灌注损伤如固体器官移植;急性器官损伤和慢性退行性疾病;危重症的严重程度和治疗好转移效果的监测等。另有研究表明,CO 的抗增殖作用可能在动脉粥样硬化和糖尿病微血管病变有临床作用。近年来,一些临床开展的实验也证实了 CO 在人体的有效作用。关于 CO 的细胞保护作用,进一步的临床研究是必要的,临床应用 CO 应充分考虑其治疗剂量,暴露时间,测定呼出 CO 的器械的选择,证实其作用效用的因子的检测,以及充分考究其毒性的程度和范围。这些,均是当前临床研究面临的问题。

参考文献:

- [1] Piantadosi CA. Biological chemistry of carbon monoxide [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(2): 259-270.
- [2] Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86(1): 99-103.
- [3] Ewing JF, Haber SN, Maines MD. Normal and heat-induced patterns of expression of heme oxygenase-1 (HSP32) in rat brain: hyperthermia causes rapid induc-

- tion of mRNA and protein[J]. *J Neurochem*, 1992, 58(3):1140-1149.
- [4] Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279(6):L1029-1037.
- [5] Fujita T, Toda K, Karimova A, et al. Paradoxical rescue from ischemic lung injury by inhaled carbon monoxide driven by derepression of fibrinolysis[J]. *Nat Med*, 2001, 7(5):598-604.
- [6] Nakao A, Kimizuka K, Stolz DB, et al. Carbon monoxide inhalation protects rat intestinal grafts from ischemia/reperfusion injury[J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(4):1587-1598.
- [7] Clark JE, Naughton P, Shurey S, et al. Cardioprotective actions by a water-soluble carbon monoxide-releasing molecule[J]. *Circ Res*, 2003, 93(2):e2-8.
- [8] Kyokane T, Norimizu S, Taniai H, et al. Carbon monoxide from heme catabolism protects against hepatobiliary dysfunction in endotoxintreated rat liver[J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(5):1227-1240.
- [9] Nakao A, Moore BA, Murase N, et al. Immunomodulatory effects of inhaled carbon monoxide on rat syngeneic small bowel graft motility[J]. *Gut*, 2003, 52(9):1278-1285.
- [10] Maines MD, Raju VS, Panahian N. Spin trap(N-t-butylphenylnitron)-mediated suprainduction[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 291(2):911-999.
- [11] Steiner AA, Branco LG. Carbon monoxide is the heme oxygenase product with a pyretic action: evidence for a cGMP signaling pathway[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 280(2):R448-457.
- [12] Ryter SW, Otterbein LE, Morse D, et al. Heme oxygenase/carbon monoxide signaling pathways: regulation and functional significance[J]. *Mol Cell Biochem*, 2002, 234-235(1/2):249-263.
- [13] Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, et al. Guanylyl cyclases and signalling by cyclic GMP[J]. *Pharmacol Rev*, 2000, 52(3):375-414.
- [14] Zuckerbraun BS, Chin BY, Bilban M, et al. Carbon monoxide signals via inhibition of cytochrome c oxidase and generation of mitochondrial reactive oxygen species[J]. *FASEB*, 2007, 21(4):1099-106.
- [15] Von Burg R. Toxicology update [J]. *J Appl Toxicol*, 1999, 19:379-386.
- [16] Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses endothelial cell apoptosis[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(7):1015-1026.
- [17] Otterbein LE, Bach FH, Alam J, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. *Nat Med*, 2000, 6(4):422-428.
- [18] Clayton CE, Carraway MS, Suliman HB, et al. Inhaled carbon monoxide and hyperoxic lung injury in rats[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 281(1):L949-957.
- [19] Ghosh S, Wilson MR, Choudhury S, et al. Effects of inhaled carbon monoxide on acute lung injury in mice[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288(6):L1003-1009.
- [20] Land WG. The role of postischemic reperfusion injury and other nonantigen-dependent inflammatory pathways in transplantation[J]. *Transplantation*, 2005, 79(5):505-514.
- [21] Vos R, Cordemans C, Vanaudenaerde BM, et al. Exhaled carbon monoxide as a noninvasive marker of airway neutrophilia after lung transplantation[J]. *Transplantation*, 2009, 87(10):1579-1583.
- [22] Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S, et al. Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 156(4 Pt 1):1140-1143.
- [23] Uasuf CG, Jatakanon A, James A, et al. Exhaled carbon monoxide in childhood asthma[J]. *J Pediatr*, 1999, 135(5):569-574.
- [24] Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, et al. Increased levels of exhaled carbon monoxide in bronchiectasis: a new marker of oxidative stress[J]. *Thorax*, 1998, 53(10):867-870.
- [25] Kharitonov SA, Barnes PJ. Effects of corticosteroids on noninvasive biomarkers of inflammation in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2004, 1(13):191-199.

(收稿日期:2013-09-28 修回日期:2013-11-22)

· 综 述 ·

血红蛋白与高原习服适应的研究进展

张倩¹, 官立彬²综述, 白志川¹, 黄 斌^{2△}审校

(1. 西南大学园艺园林学院, 重庆 400715; 2. 第三军医大学高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室, 重庆 400038)

关键词: 血红蛋白; 高原; 缺氧; 习服; 适应

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.06.046

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)06-0753-03

机体暴露于高原环境一定时间后, 通过调动一系列代偿性低氧调节反应, 恢复稳态, 维持机体的生存能力与作业能力, 这