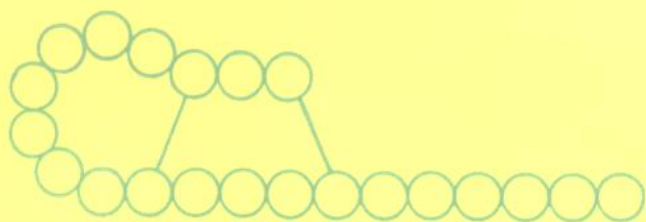


内 皮 素

ENDOTHELINS

基础·临床



汤 健 唐朝枢
杨 军 谭敦勇 周 洪
编 著

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

DE 15 / 15
内 皮 素

ENDOTHELINS

基础·临床

汤 健 唐朝枢

杨 军 谭敦勇 周 洪

编 著

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

R335
TJ-2

(京) 新登字147号

内皮素——基础、临床

编 著：汤 健 唐朝枢

责任编辑：周爱儒 许 立

* * *

(社址：北京医科大学院内)

新华书店总店科技发行所发行 各地新华书店经销

北京密云华都印刷厂印刷

* *

开本：850×1168 1/32 印张：13.125 字数：341千字

1994年4月第1版 1994年4月第1次印刷 印数：1—3000册

ISBN 7-81034-330-0/R·330 定价：15.00元

主要写作和研究人员

(按姓氏笔划为序)

牛大地 田 青 赵 东

汤 健 张连元 吴建明

宋良文 李倩虹 张灵芝

孙双丹 张晨晖 张继峰

张荪曦 杨 军 杨 鸿

周 洪 唐朝枢 徐 军

温进坤 傅爱华 谭敦勇

序 言

我们曾经提出，心血管系统不仅是血液循环的管道，而且亦具有极其重要的内分泌功能。继心钠素发现之后，内皮素的问世又是一个极好的证明。

内皮素(endothelins,ET)是1988年日本Yanagisawa等从猪主动脉内皮细胞中分离出的一种由21个氨基酸组成的多肽，具有强大的缩血管和促血管平滑肌细胞增殖的作用，在许多心、脑、肺、肾和血管疾病的发病中都有重要意义。五年来，内皮素的研究报告已有万余篇，是继心钠素之后，心血管活性多肽和内分泌研究的又一个“热点”。

我们研究室自1988年开始进行内皮素的研究，已发表论文近百篇，涉及到内皮素的生理、生化、病生理、药理、临床和分子生物学研究的多个领域。因此，这本专著不仅较系统地介绍了国际上内皮素研究的现状和进展，亦是我们研究室近五年来内皮素研究工作的一个总结。

本书共有二十五章，分为基础和临床两个部份。前十五章为基础部分，主要介绍内皮素结构、种类、合成、分布、释放、调节、受体和对各个系统的作用；后十章为临床部分，主要介绍内皮素在心血管、肾脏、呼吸等各个系统疾病发病中的意义。由于内皮素过量分泌和释放是许多急、危、重症发病的一个重要诱因，拮抗内皮素的作用具有重要的临床意义，因此在本书的最后，根据我们研究室研究结果，新增了“内皮素拮抗剂的研究和应用”一章。

内皮素的研究正处在兴旺时期。随着细胞生物学、分子生物学和临床研究的进展，内皮素的研究正在向纵深发展。在我国，

内皮素的研究亦越来越受到基础和临床工作者的关注。为了解和推动我国内皮素研究的进展，在本书的最后又设了一个附录，介绍目前研究内皮素的几个主要研究方法，以供实际应用时参考。

这本书的写作主要是由年青同志完成的。其中杨军，谭敦勇和周洪同志承担了大部分的写作任务；我和唐朝枢教授只是做了一些筹划、组织和搜集资料的工作。我为我们的青年一代感到无限的欣慰和自豪，他们在完成繁重研究任务的同时，夜以继日的学习、工作，从不计个人的报酬和得失，体现了我们青年一代的精神风貌和聪明才智，尽管这只是他们第一次尝试，尽管这本书还有许多欠缺、错误和不尽满意的地方，但这毕竟是一个良好的开端、可喜的一步。我希望这本书能对心血管基础和临床研究者有所帮助，并殷切期望能够得到读者、专家和老师们的批评、指正！

汤 健

于北京医科大学心血管基础研究所

1993年3月31日

目 录

序言

第一章 内皮细胞	(1)
第一节 内皮细胞的形态学特点.....	(1)
第二节 内皮细胞的异质性.....	(8)
第三节 影响内皮细胞生长和增殖的因素.....	(12)
第四节 内皮细胞的内分泌功能.....	(14)
第五节 内皮细胞合成内皮素的亚细胞定位.....	(19)
第二章 内皮素的生物化学	(23)
第一节 内皮素的结构.....	(23)
第二节 内皮素家族及其命名.....	(26)
第三节 与内皮素相关的生物毒素.....	(28)
第四节 内皮素的生物合成.....	(31)
第五节 内皮素转换酶.....	(35)
第六节 内皮素的降解及清除.....	(37)
第三章 内皮素的分子生物学	(42)
第一节 内皮素的分子克隆.....	(42)
第二节 内皮素的cDNA及基因结构.....	(44)
第三节 内皮素基因的表达调控.....	(48)
第四节 内皮素基因家族.....	(52)
第五节 内皮素的基因工程.....	(55)
第四章 内皮素在体内的分布	(60)
第一节 血管内的分布.....	(60)
第二节 心脏的分布.....	(62)
第三节 肾脏的分布.....	(63)

第四节	肺内的分布·····	(65)
第五节	中枢和外周神经系统的分布·····	(66)
第六节	消化道的分布·····	(68)
第七节	生殖系统的分布·····	(69)
第八节	体液中的内皮素·····	(73)
第五章	内皮素的释放调节·····	(79)
第一节	理化因素的影响·····	(79)
第二节	血管活性物质和细胞因子的作用·····	(84)
第三节	其它调节因素·····	(94)
第四节	内皮素释放及调控的细胞机制·····	(95)
第六章	内皮素受体·····	(101)
第一节	内皮素受体分型及特征·····	(101)
第二节	内皮素受体的分布·····	(104)
第三节	内皮素受体的分子生物学·····	(118)
第四节	内皮素受体的调节·····	(120)
第七章	内皮素受体后的信息传递系统·····	(127)
第一节	磷酸肌醇系统·····	(127)
第二节	细胞内 Ca^{2+} 动员·····	(128)
第三节	Na^+/H^+ 交换·····	(131)
第四节	磷脂酶 A_2 和腺苷酸环化酶·····	(132)
第五节	钾通道·····	(133)
第八章	内皮素的心血管效应·····	(137)
第一节	血管收缩作用·····	(137)
第二节	对微循环的影响·····	(146)
第三节	对冠状循环的影响·····	(151)
第四节	心肌的正性肌力作用·····	(157)
第五节	对血液动力学的影响·····	(163)
第六节	内皮素的促细胞增殖作用·····	(164)
第九章	内皮素与中枢神经系统·····	(173)

第一节	内皮素在中枢神经系统中的分布·····	(173)
第二节	中枢神经系统的内皮素受体·····	(174)
第三节	内皮素的中枢心血管效应·····	(176)
第四节	内皮素对神经内分泌的影响·····	(181)
第五节	其它作用·····	(184)
第十章	内皮素与消化·····	(191)
第一节	胃肠道的内皮素作用特点·····	(191)
第二节	对肝脏和门静脉的影响·····	(193)
第十一章	内皮素与肾功能·····	(199)
第一节	内皮素及其受体在肾脏分布的特征·····	(199)
第二节	内皮素对肾血流动力学和滤过率的影响·····	(201)
第三节	内皮素对肾小管重吸收的作用·····	(206)
第四节	内皮素对系膜细胞的影响·····	(209)
第十二章	内皮素与呼吸系统·····	(214)
第一节	内皮素在呼吸系统的分布·····	(214)
第二节	内皮素对气管、支气管的作用·····	(216)
第三节	内皮素对肺血管的作用·····	(224)
第十三章	内皮素与生殖·····	(231)
第一节	生殖系统的内皮素及其受体的分布·····	(231)
第二节	内皮素的女性生殖生理作用·····	(235)
第三节	内皮素对男性生殖生理的作用·····	(238)
第十四章	内皮素与内分泌功能·····	(243)
第一节	内皮素与心钠素·····	(243)
第二节	内皮素与血管紧张素·····	(246)
第三节	内皮素与肾上腺激素·····	(250)
第四节	内皮素对其它内分泌的影响·····	(252)
第十五章	内皮素的其它生物学效应·····	(257)
第一节	内皮素与结缔组织·····	(257)
第二节	内皮素与眼生理调节·····	(259)

第十六章	内皮素与缺血性心脏病	(261)
第一节	心肌缺血时血浆内皮素的变化.....	(261)
第二节	内皮素在冠状动脉痉挛中的作用.....	(262)
第三节	腔内冠脉成型术时内皮素的变化.....	(263)
第四节	内皮素与心肌梗塞.....	(264)
第五节	内皮素与心肌缺血再灌注损伤.....	(267)
第六节	内皮素在心肌缺血损伤中的作用机理.....	(269)
第十七章	内皮素与动脉粥样硬化	(277)
第一节	内皮素与脂质代谢.....	(277)
第二节	内皮素的促血管平滑肌细胞增殖作用.....	(279)
第三节	内皮素与其它生长因子的协同作用.....	(281)
第十八章	内皮素与高血压	(285)
第一节	高血压症时内皮素的变化.....	(285)
第二节	高血压症时内皮素的反应性.....	(288)
第三节	高血压症时内皮素受体的变化.....	(292)
第四节	内皮素的致高血压作用.....	(293)
第十九章	内皮素与其它心血管疾病	(298)
第一节	内皮素与心律失常.....	(298)
第二节	内皮素与心肌肥厚.....	(299)
第三节	内皮素与心功能不全.....	(302)
第四节	内皮素与其它心血管病.....	(305)
第二十章	内皮素与休克	(309)
第一节	内皮素性休克.....	(309)
第二节	休克时血浆内皮素的变化.....	(310)
第三节	内皮素致休克作用的机制.....	(312)
第二十一章	内皮素与肺疾病	(318)
第一节	内皮素与肺动脉高压.....	(318)
第二节	内皮素与成人呼吸窘迫综合征.....	(320)
第三节	内皮素与支气管哮喘.....	(322)

第二十二章 内皮素与肾脏疾病	(326)
第一节 肾小球肾炎.....	(326)
第二节 肾功能不全.....	(327)
第三节 肾移植.....	(330)
第二十三章 内皮素与肿瘤	(332)
第一节 消化系统的恶性肿瘤.....	(332)
第二节 肺癌.....	(333)
第三节 恶性血管内皮瘤.....	(333)
第四节 子宫内膜癌.....	(333)
第五节 其他肿瘤.....	(335)
第二十四章 内皮素与其它疾病	(338)
第一节 内分泌疾病.....	(338)
第二节 消化系统疾病.....	(341)
第三节 生殖系统疾病.....	(346)
第四节 器官移植和外科手术.....	(349)
第二十五章 内皮素拮抗剂的研究和应用	(354)
第一节 特异性内皮素-1受体拮抗剂.....	(354)
第二节 特异性内皮素抗体.....	(363)
第三节 内皮素合成抑制剂.....	(366)
第四节 内皮素生物效应拮抗剂.....	(367)
第五节 抗蛇毒中草药.....	(377)
附录 1: 内皮细胞的培养	(381)
附录 2: 人血管内皮细胞cDNA文库的构造	(388)
附录 3: 内皮素及其受体mRNA的测定	(391)
附录 4: 内皮素的放射免疫分析	(401)
附录 5: 内皮素的免疫组织化学方法	(407)

第一章 内皮细胞

血管是循环系统血液循环的管道,主要由内皮细胞、平滑肌和结缔组织组成。1865年生理学家His首次提出内皮 (endothelium) 这一个概念。其后的一百多年来,人们认为,内皮细胞是被覆于血管表面的机械屏障和光滑内膜,是维持血液流动状态的重要条件。人体的内皮细胞总量约为 10^{12} 个,表面积可达 1000m^2 。随着生化分离技术和微量测定方法的发展,近十几年来的研究证明,血管内皮不仅是机体重要的屏障和半透膜,而且还是机体重要的代谢和内分泌器官。它可以合成和释放几十种生物活性物质,在循环系统局部稳态维持、机体自身防病机制中发挥重要的调节作用。由于内皮细胞遍布全身各个器官、组织,因此,机体所有器官组织无一不受内皮细胞内分泌功能的调控。

第一节 内皮细胞的形态学特点

内皮细胞 (endothelial cells EC) 为单层扁平上皮,覆盖于血管、淋巴管的管壁内表面,其游离面与血液相邻。基底部与血管基底膜相连,胚胎发育过程中,由中胚层或间充质发育而来。成年时在某些病理情况下,毛细血管内皮亦可由周边细胞分化而来。动、静脉内皮细胞受损后,由成纤维细胞、血管平滑肌细胞以及内皮下层未分化的细胞分化而来。在胚胎发育早期,内皮细胞先增生成索,其后出现充满液体的细胞间隙,此细胞间隙相互融合而成为血管腔。内皮细胞是更新较快的细胞群,如兔的主动脉内皮细胞生存期为100—180天。静脉内皮细胞较动脉内皮细胞分裂能力要强。

内皮细胞亦是一种极性细胞。其细胞器的排列具有一定方向性，游离面与基底面的特性有明显的差异。在内皮细胞的游离面带有负电荷，可防止血细胞的聚集。内皮细胞的底部则与基底膜相连，基底膜与内皮细胞常由一厚约5nm的透明膜隔开。

形态学研究表明，内皮细胞属多角形扁平细胞，其大小比较一致，宽约10—15 μm ，长约25—50 μm ，细胞沿血管长轴排列。细胞长轴与血管长轴方向一致。细胞核呈长圆形，位居细胞中央，胞质界限清楚。此外，还有一些大小相近，直径约60—70nm的质膜小泡(plasmalemmal vesicle)，因其具有内吞作用，故亦称之为吞饮小泡，此种质膜小泡以毛细血管内皮细胞最为典型。小泡约占内皮细胞胞质体积的25—35%，其中约30%的小泡开口于内皮细胞的游离面，约40%的小泡与基底膜面相融合，其余1/3以下的小泡则悬存于胞质中，开口于细胞间隙者偶见，开口于内皮游离面的小泡也称为小凹。悬存于胞质中的小泡，其实际数量取决于整个内皮层的厚度。心脏毛细血管、骨骼肌、舌肌和肺毛细血管内皮细胞内小泡数量较多，而正常脑毛细血管的小泡数量较少。有时，小泡也可相互连成，形成贯穿内皮的暂时性孔道，称为穿内皮性管(transendothelial channel)。固醇类激素尤其是雌激素水平的增加、组织冷却、发炎等情况下，可致小泡形成。小泡融合的数量增加时穿内皮性管的形成亦增加。这在内皮较薄的部分特别是静脉端更易见到。在内皮游离面的小泡开口处有时可见隔膜样结构，或许与形成窗孔有关。有人推测质膜小泡、穿内皮性管和窗孔可能是一个动态系统的不同形态表现。抑或质膜小泡是一种膜贮备，备用于毛细血管的突起扩大或延长，或参与窗孔、细胞内或细胞间隙、孔道的形成以及形成穿内皮性管、内皮的微绒毛和皱裂等。估计约125个小泡相当1 μm^2 表面积，在许多连续性内皮中，1 μm^2 内皮表面可含有250个以上的小泡。因此，毛细血管可由此侧腔面和基底面的表面积扩大近两倍。近年研究表明，质膜小泡还参与大分子物质的运输，

它是内皮细胞的一种运载工具。有人在研究内皮素在内皮细胞的亚细胞定位时，发现小泡是聚集ET的主要部位之一(详细内容见后)。

电镜观察表明，血管内皮细胞含有成束的肌动蛋白微丝(F-actin containing microfilaments)。肌动蛋白微丝既可以在内皮细胞的周围部，亦可在其中央部分出现。当内皮细胞长满培养皿，并出现接触抑制时，在细胞的周边部有大量成束的肌动蛋白微丝出现(有作者称其为dense Peripheral band, DPB)。在细胞的中央部分则随机分布一些较短的成束的微丝，中央部微丝随着培养细胞数量之增加会逐渐减少。微丝的出现可能与内皮细胞受刺激后的收缩有关。

内皮细胞之间尚有紧密连接，且多在内皮细胞的近腔面，有的则环绕整个细胞成带状，称为闭锁小带。也有的为间断存在的斑，称为闭锁斑(macula ocludens)。其中闭锁小带只见于脑血管内皮，其他血管的内皮则为闭锁斑。两个相邻的内皮细胞间的连接有一定差异。最简单的形式是两细胞连接区的边缘，短而平直，亦有的其边缘呈犬牙咬合状。动脉内皮细胞具有较复杂的紧密连接和缝隙连接；静脉内皮有较长的紧密连接和多数缝隙连接。

内皮细胞有的胞质突起伸出到管腔内，此种突起有的为细指状的微绒毛，有的为片状或瓣状，也有的呈较粗大的圆柱状(直径约为250—350nm，长约300—3000nm)。较短的突起其末端圆钝，较长的突起可有分枝，并相互融合或交织与细胞表面相融合。突起中也有质膜小泡。突起的功能尚不十分清楚。微绒毛可能与吸收作用或炎症时捕捉白细胞有关；片状或瓣状突起则可能参与了细胞的吞饮作用，以便从血液中摄取有关物质并向组织输送。垂体门脉系统中血管内皮高度发达的瓣状突起，可能还具有类似瓣膜的作用。主动脉内皮的瓣状突起随年龄增加而增加，使内皮细胞的表面积增大，或许与其通透性有关。一些较大的指状

突起。显然扩大了内皮细胞的表面积，影响血液的流体力学特性，例如易于形成局部旋涡。大血管的内膜距管壁内的营养血管较远，突起使血流减慢，可能有利于物质交换及血液中某些活性物质的代谢。

毛细血管内皮细胞上尚有特征性的窗孔。窗孔一般呈圆形或卵圆形，其直径大小不等。脉络丛和睫状体毛细血管内皮窗孔直径为30—40nm，眼球脉络膜毛细血管窗孔直径为40—50nm，内分泌腺、胰和肾为30—50nm(肾血管球除外)，而肝和肾血管球的则为100nm。窗孔是血管腔与内皮周隙间的细小通道，一般封以极薄的中等电子密度的膜(称隔膜)，厚度约4—6nm。隔膜可能是两质膜外层的融合。在超薄切片，窗孔的分布似乎是随意的，但在冰冻蚀刻标本内窗孔排列则很规则，相邻两孔中心点的距离约为130nm。某些内皮层的窗孔面积较大，如肾血管球内皮窗孔面积超过30%。窗孔是极不稳定的暂时性结构，它可以由质膜小泡变化而来。窗孔的存在对提高毛细血管内皮通透性具有重要意义。

内皮细胞的另一形态特点是含有非常发达的内皮网及高尔基体，这一点尤以胚胎和新生动物血管及再生血管内皮细胞更为明显，为内皮细胞的内分泌功能提供了可靠的形态学证据。

细胞化学证明，内皮细胞含有多种酶，参与无氧糖酵解、氧化磷酸化及去磷酸化作用。多数酶位于内皮细胞质膜小泡中，如ATP酶、核苷磷酸化酶及5'-核苷酸酶等见于小泡和连接部位。内皮细胞中尚可见到凝血因子Ⅷ、血型物质A、B、H以及合成和分泌硫酸粘多糖等。

内皮细胞培养技术的发展有助于我们更多地了解它们的功能，并且从人和其他物种而来的培养的内皮细胞保存了许多其在体内的特点。

各种类型的培养的内皮细胞在长至融合时均呈现为“鹅卵石”样(图1-1b)。无论在体内、体外，内皮细胞形成严格的单

层，复制频率较低，大约每天有千分之一一个细胞在复制。

图1-1所示为相差显微镜下原代培养的牛主动脉内皮细胞。框

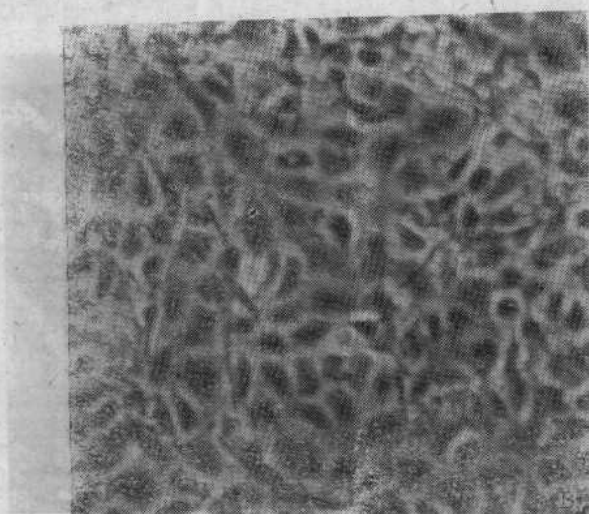
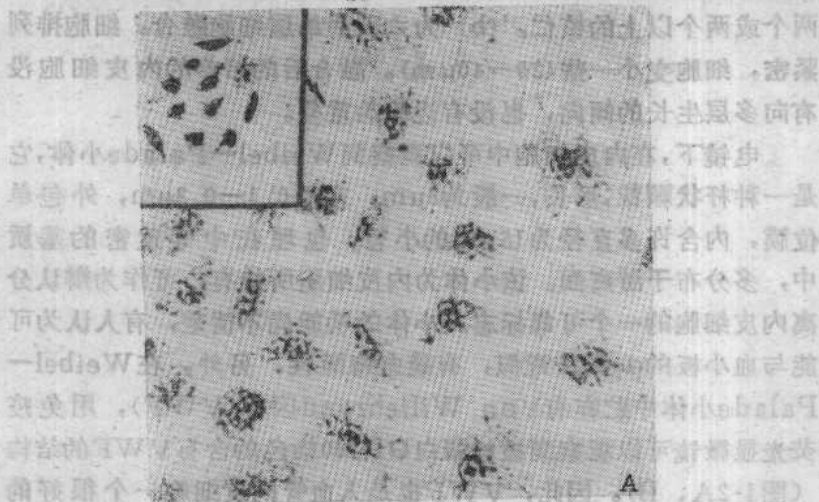


图1-1a 相差显微镜下原代培养的牛主动脉内皮细胞

a. 相差显微镜下接种2天后牛主动脉内皮细胞($\times 345$)

框内为接种1小时后贴壁细胞($\times 495$)

b. 接种六天后单层细胞融合。

内所示为接种1小时后贴壁细胞。(a)所示为接种2天后的细胞形态。这些细胞大约有40—60 μm ，细胞中央的有突出的核，其中有二个或二个以上的核仁。(b)为六天后单层细胞融合。细胞排列紧密，细胞变小一些(20—40 μm)。融合后的培养的内皮细胞没有向多层生长的倾向，也没有边缘的重叠。

电镜下，在内皮细胞中可以观察到Weibel—Palade小体，它是一种杆状颗粒，形长，一般为3 μm ，直径0.1—0.3 μm ，外包单位膜，内含许多直径为15nm的小管，包埋在中等致密的基质中，多分布于游离面。该小体为内皮细胞所特有，可作为辨认分离内皮细胞的一个可靠标志。小体的功能尚不清楚，有人认为可能与血小板的 α -颗粒近似，有凝血酶活性。另外，在Weibel—Palade小体中贮存有Von Willebrand因子(VWF)，用免疫荧光显微镜可以观察到被糖蛋白GP140染色的含有VWF的结构(图1-2A、B)。因此，VWF也是人血管内皮细胞一个很好的辨认标志。

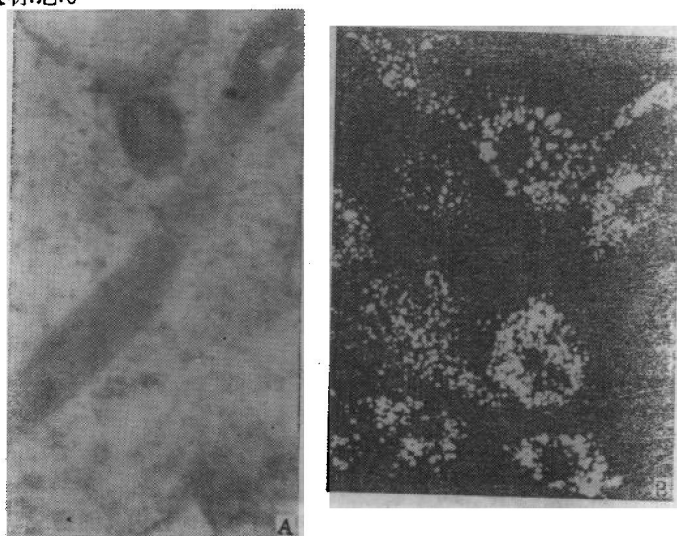


图1-2 荧光显微镜下内皮细胞中被染色的Von Willebrand因子