

内皮源性 超极化因子

ENDOTHELIUM - DERIVED
HYPERPOLARIZING
FACTOR

〔美〕 P. M. 瓦努特 著
主译审 修瑞娟



世界图书出版公司

内皮源性超极化因子

Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor

〔美〕 P.M. 瓦努特 著

主译审 修瑞娟

世界图书出版公司

北京·广州·上海·西安

图书在版编目(CIP)数据

内皮源性超极化因子/(美)P.M.瓦努特(Vanhoutte, P.M.)著;修瑞娟主译审. — 北京:
世界图书出版公司北京公司, 1998.11
ISBN 7-5062-3953-1

I. 内… II. ①瓦… ②修… III. 内皮源性-超极化-因子-研究
IV. R331.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 30472 号

书 名: 内皮源性超极化因子

原 著 者: (美)P.M. 瓦努特

主 译 审: 修瑞娟

责任编辑: 西世良

出 版: 世界图书出版公司北京公司

印 刷: 北京昌平百善印刷厂印刷

发 行: 世界图书出版公司北京公司(北京朝内大街 137 号, 100010)

销 售: 各地新华书店

开 本: 787×1092 1/16 **印张:** 10 **字数:** 185 千

版 次: 1999 年 1 月第 1 版 1999 年 1 月第 1 次印刷

印 数: 0001-1000

书 号: ISBN 7-5062-3953-1/R·99

定 价: 55.00 元



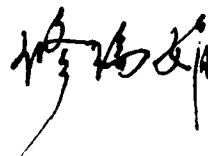
Paul M. Vauhanke

序

本书是国际著名学者、法国施维雅研究院院长、欧洲科学院院士、比利时医学科学院院士、“*Journal of Cardiovascular Pharmacology*”总编、中国协和医科大学客座教授、中国医学科学院微循环研究所名誉教授 Paul M. Vanhoutte 博士的一部重要专著。该书系统地介绍了有关内皮源性超极化因子(EDHF)的各方面研究进展及最新研究成果。取材新颖、内容丰富,是当前内皮细胞生物学领域的一部佳作。

内皮(Endothelium)的概念首先由 His 于 1865 年提出。在其后的很长时间,人们对它的认识一直停留在表观水平。随着现代生物学技术的应用,对血管内皮细胞功能的研究出现了突破性进展。1980 年 Robert Furchgott 在“*Nature*”上首先报道了血管内皮在乙酰胆碱作用下可产生舒张血管平滑肌细胞的物质,即内皮源性舒张因子(EDRF)。进一步地实验表明,血管内皮可以合成和分泌内皮源性舒张物质、前列腺素类物质(PGs)以及内皮素(ET)等一系列血管活性物质来调节血管自身的张力,并分泌多种生长因子改变自身的结构,还可通过其分泌的一系列与凝血、纤溶等有关的物质及粘附分子而影响血液的流动性及血液细胞的功能。这些活动处于精细的动态平衡之中,以实现血管(特别是微血管)的生理功能。鉴于所有血管的内壁均由内皮细胞构成,特别是密布于机体各大系统和器官中的微血管,因此血管内皮细胞功能的改变与某些重要疾病的发生、发展有“牵一发而动全身”的密切关系,其平衡失调会引发血管源性疾病或微循环障碍性疾病,如脑卒中、冠心病、高血压、血管痉挛性疾病、糖尿病以及外周血管性疾病等。EDHF 是近年发现的可引起血管内皮细胞产生依赖性舒张作用的因子,其作用不受 N^{G} -硝基-L-精氨酸、吡啶美辛或优降糖等影响,表明 EDHF 是不同于一氧化氮(NO)或 PGs 等的血管活性物质。血管内皮产生的 EDHF 作用于平滑肌细胞产生超极化作用,促进血管平滑肌舒张、减弱血管壁对一些缩血管活性物质的反应。

参与翻译的青年学者都工作在科研和临床第一线。他们对本书倾注了大量的心血和智慧,反映出青年一代科学工作者对前沿科学孜孜以求和蓬勃向上的进取精神。目前,EDHF 的重要性已引起广泛重视,对它的深入研究有助于揭示血管源性疾病和微循环障碍性疾病的本质,为临床治疗提供新的途径。因此,我乐于将这本前沿科学的专集介绍给我国科学界。



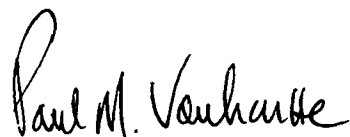
1998 年 2 月

原著前言

自从 Robert Furchgott 描述了兔主动脉内皮依赖性反应后,血管生理学家和药理学家们就对这一现象产生了极大兴趣。到目前为止,在所研究的各种属动物(包括人类)中,都发现存在有内皮依赖性反应。随着岁月的流逝,人们已逐渐明确,内皮是通过释放寿命短暂、效力强大的介质因子来调控血管平滑肌张力的,并已证明 Robert Furchgott 首先提出的“内皮源性舒张因子”(Endothelium-Derived Relaxing Factor, EDRF)就是一氧化氮(NO)。然而,随着对内皮依赖性反应认识的迅速进展,人们已清楚认识,即使排除前列环素和另一些前列腺素类血管舒张剂,作为内皮细胞产物的 NO 仍不能解释所有的内皮依赖性舒张作用,人们不得不设想,是否还存在另外的内皮细胞介质。本专集论述了最有可能引起内皮源性舒张作用的候选物质——内皮源性超极化因子(Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor, EDHF),并收集了部分第一届国际 EDHF 研讨会的专题报告。这次研讨会具有重要意义,因为来自这一研究领域的大多数科学家发表了他们的研究成果。显然,由于目前对 EDHF 诸方面问题尚存在分歧,因此要对 EDHF 的确切性质及其在健康和疾病中的作用作出定论还为时尚早。本专集向读者提供了第一本关于 EDHF 的较全面的综述。

本专集首先讨论了 EDHF 的存在以及它对血管的作用,然后论述了 EDHF 的性质和释放机理,并进一步阐述了 EDHF 对血管平滑肌细胞的效应以及对血管壁潜在的生理学作用,还从一些侧面探讨了动物血管疾病模型中 EDHF 的释放及其功能的异常表现,总结了有关的例证。本专集表明 EDHF 在人类生理学和病理学研究中均具有重要作用。

“内皮源性超极化因子”不仅引起了被内皮细胞和血管平滑肌细胞之间复杂相互作用所困扰的生理学和药理学家们的兴趣,也引起了临床研究者 and 治疗心血管疾病的内科医生们的关注。的确,掌握 EDHF 的性质和作用,对于探索提高治疗高血压和血管痉挛性疾病的水平是非常关键的。



Paul M. Vanhoutte

译者

张 坚	中国医学科学院微循环研究所	副研究员
肖林生	中国医学科学院微循环研究所	研究员
茆 挺	中国医学科学院微循环研究所	助理研究员
黄益民	北京安贞医院血液流变实验室	副主任医师
马 宏	北京安贞医院心内科监护中心	副主任医师
贾士东	中国医学科学院微循环研究所	博士研究生
迟 喧	中国医学科学院微循环研究所	硕士研究生
付仕明	中国医学科学院微循环研究所	硕士研究生

译审

张 坚	中国医学科学院微循环研究所	副研究员
肖林生	中国医学科学院微循环研究所	研究员

审校

修瑞娟	中国医学科学院微循环研究所	教授、研究员
-----	---------------	--------

目 录

第一章 多种内皮源性舒张因子的存在	1
引言	1
不同 EDRF 的生物测试	1
G 毒毛旋花甙和内皮依赖性舒张	3
结论	6
第二章 内皮依赖性超极化作用	10
摘要	10
引言	10
方法	11
结果	11
讨论	13
第三章 犬动脉内皮源性超极化因子的生物测定	15
摘要	15
引言	15
材料与方法	15
结果	16
讨论	19
第四章 EDHF 的生物测定—EDHF 是否为一种不明干扰成分?	21
摘要	21
引言	21
背景	21
灌流—串联式灌流血管生物测试法	22
讨论和展望	23
第五章 内皮源性前列环素对血管平滑肌张力的调节作用	25
摘要	25
前言	25
前列环素介导的舒张机制	26
内皮源性前列环素	27
其它协同剂	27
其它种类动物	29

不同的组织	30
结论	31
第六章 P450 单氧化酶途径抑制剂不能阻止豚鼠颈动脉的内皮依赖性超极化 ...	
.....	32
摘要	32
引言	32
材料和方法	33
结果	33
讨论	35
第七章 犬冠状动脉钙调蛋白抑制剂与内皮源性超极化因子的释放	36
摘要	36
引言	36
材料与方法	37
结果	37
讨论	40
第八章 一氧化氮作为内皮源性超极化因子的其他作用	41
摘要	41
前言	41
非 cGMP 依赖性的、内皮依赖性的舒张作用	42
钾通道在内皮依赖性舒张中的作用	43
内皮源性的 NO 可引起非 cGMP 依赖的舒张作用	44
NO 可激活钾通道并引起非 cGMP 依赖的舒张作用	45
高胆固醇血症时 cGMP 及钾通道的变化对 NO 诱导舒张作用的影响	47
结论	50
第九章 EDHF 对不同动脉平滑肌舒张作用重要性的差异	52
摘要	52
引言	52
方法	53
结果	53
讨论	56
第十章 仓鼠颊囊微血管的 EDRF、自律运动及平均动脉管径	58
摘要	58
引言	58

材料和方法	59
结果	60
讨论	64
第十一章 冠状动脉微循环中内皮依赖性超极化作用	67
摘要	67
内皮细胞分泌物对冠状动脉张力的调控作用	67
EDHF 在冠状动脉微循环中的作用	68
K _{Ca} 通道的作用	69
细胞色素 P450 源性花生四烯酸代谢的参与	70
心肌—内皮间缝隙连接	71
病理生理学意义	71
第十二章 大鼠的衰老和肠系膜动脉高压可降低内皮依赖性超极化作用	73
摘要	73
引言	73
材料与方法	74
结果	74
讨论	77
第十三章 肾性高血压大鼠主动脉内皮依赖性超极化及舒张反应的抑制	79
摘要	79
前言	79
材料与方法	80
结果	81
讨论	85
第十四章 内毒素血症减弱犬冠状动脉 EDHF 作用、增强前列腺素类物质作用	89
摘要	89
引言	89
材料与方法	90
结果	90
讨论	94
第十五章 人冠状动脉中的内皮依赖性超极化因子	96
摘要	96
引言	96

材料与方法	97
结果	98
讨论	100
第十六章 结论:是否存在多种内皮细胞源性超极化因子?	102
附录 A:原著作者 Paul M. Vanhoutte 简历	105
附录 B:原著作者发表的部分论著及论文(1990-1997)	110
附录 C:中英文名词对照	125
附录 D:参考文献	130
附录 E:作者索引	146

第一章 多种内皮源性舒张因子的存在

Paul M. Vanhoutte, Michel Félétou, Chantal M. Boulanger, Ute Höffner and Gabor M. Rubanyi

引言

血管内皮位于血液和血管壁细胞之间,对调控局部血流动力学状态起着决定性作用。早在1980年,Furchgott和Zawadzki就发现乙酰胆碱(acetylcholine)对离体动脉的舒张作用依赖于内皮细胞的存在。这种作用是由一种不稳定的、最初被称之为内皮源性舒张因子(Endothelium-Derived Relaxing Factor,EDRF)的物质所介导。此后,许多研究者采用了多种血管活性物质(Furchgott and Vanhoutte, 1989; Lüscher and Vanhoutte, 1990; Moncada *et al.*, 1991),并在多种血管中重复了他们创造性的发现。内皮源性舒张因子是通过激活可溶性鸟嘌呤环化酶(Guanylate Cyclase,GC),增加cGMP水平来舒张血管平滑肌的,这一作用机理与外源性硝基扩血管剂相同(Förstermann *et al.*, 1986 b; Ignarro and Kadowitz, 1985; Rapoport and Murad, 1983)。内皮源性舒张因子(EDRF)和一氧化氮(NO)一样能被超氧阴离子清除(Rubanyi and Vanhoutte, 1986)。根据它们相类似的药理学作用(Furchgott, 1988; Ignarro *et al.*, 1987 a and 1988 a),已证实EDRF就是NO自由基或者是与NO密切相关的成分,可引起离体血管内皮依赖性舒张(Palmer *et al.*, 1987)。在发现内皮依赖性舒张作用后不久,采用多种花生四烯酸代谢物抑制剂所进行的药理学研究结果提示,动脉及其内皮活性介质间的功能联系至少存在三种不同的途径(De Mey *et al.*, 1982),其中途径之一涉及前列环素(prostacyclin)的合成(Moncada and Vane, 1979; Lüscher and Vanhoutte, 1990)。此外,本文介绍了使用环氧化酶抑制剂吲哚美辛(indomethacin)进行血管生物测试的研究结果,排除了内源性前列腺素类血管扩剂合成的影响。这些研究指出除NO和前列环素外内皮细胞还释放第三种扩血管物质(Rubanyi *et al.*, 1985, 1987; Rubanyi and Vanhoutte, 1985 b; Rubanyi and Vanhoutte, 1987; Félétou and Vanhoutte, 1987; Höffner *et al.*, 1989 a and b; Boulanger *et al.*, 1989, 1990)。

不同EDRF的生物测试

在串联式灌流的血管生物测试系统中,用流经有内皮的股动脉灌流液对下游去内皮的生物测试血管环进行灌流,所产生的血管舒张作用是由于流体剪切力激发内皮细胞释放EDRF的结果(此为基础释放, Rubanyi *et al.*, 1986)。增加有内皮血管环灌流液中的乙酰胆碱浓度($10^{-8} \sim 10^{-6}$ M)可引发下游血管环双相的、浓度

依赖的舒张作用(Rubanyi *et al.*, 1987)。乙酰胆碱的浓度在 10^{-8} M 到 5×10^{-8} M 范围内(第一相)引起短暂的、舒张幅度的增加。较高浓度(5×10^{-7} M $\sim 10^{-6}$ M)的乙酰胆碱也可引起舒张,但与低浓度的情况相反,舒张作用持续时间长,至少可达 20 分钟(第二相)。对有内皮血管用磷脂酶 A_2 抑制剂阿的平(quinacrine, 10^{-4} M)、脂氧酶抑制剂去氧二氢愈创木酸(nordihydroguaiaretic acid, NDGA, 5×10^{-5} M)或细胞色素 P450 抑制剂甲双吡丙酮(metyrapone, 2×10^{-4} M)进行灌注,能抑制低浓度乙酰胆碱所引起的舒张作用,但是对浓度-舒张曲线的第二相无明显的影响(图 1-1; Rubanyi and Vanhoutte, 1987)。这些结果提示乙酰胆碱可激发犬股动脉内皮释放两种不同的舒张介质,其中之一是脂氧酶产物或环氧酶产物。

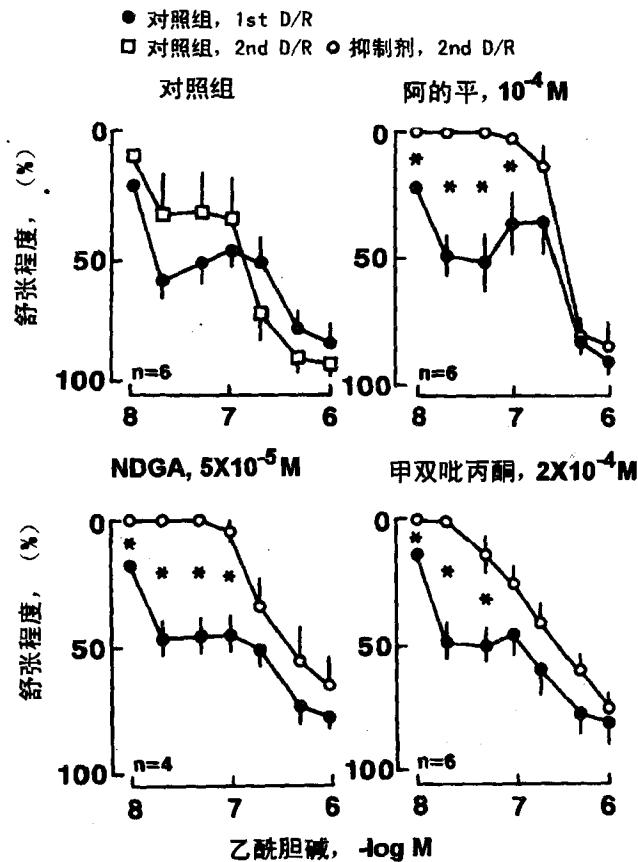


图 1-1 串联式血管灌注生物测试实验显示,花生四烯酸代谢物抑制剂对乙酰胆碱诱导犬股动脉释放内皮源性舒张因子的浓度-舒张反应曲线的作用。用串联式血管灌注处理的犬冠状动脉环(无内皮)测试舒张介质的作用,当有吲哚美辛存在时用前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 预制引起收缩作用,舒张介质的作用程度用抑制 $PGF_{2\alpha}$ 诱导收缩作用的百分数表示(均数 $\pm$ SEM), n 表示不同犬的血管数,星号表示与对照组比较统计学差异显著($P < 0.05$)。(根据 Rubanyi and Vanhoutte, 1987 资料修改,并得到美国心脏协会的惠允)

不同大小的犬冠状动脉生物测试环对 EDRF 基础释放的反应性是不一致的(图 1-2)。基础释放的 EDRF 对远端冠状动脉的舒张作用要比近端强,但对乙酰胆碱所诱导的 EDRF 释放的反应性无差别。另外,近端或远端冠状动脉环对硝基扩血管剂或 NO 直接刺激的反应相似(Höffner *et al.*, 1989 b)。这些结果提示,在基础情况下,NO 并非是由内皮细胞产生的唯一介质。

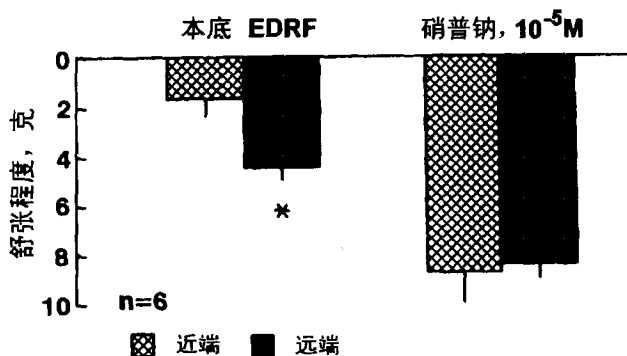


图 1-2 利用串联式血管灌流生物测试系统研究近端和远端旋支冠状动脉环(无内皮)的张力变化。左:基础条件下有内皮的串联式灌流(股动脉供体片段)诱导的舒张作用;右:硝普钠诱导的舒张作用($10^{-5}M$,施加于有内皮的串联式灌流系统下游)。数据采用均数±标准误(SEM)表示,并给出绝对值。EDRF:内皮源性舒张因子。星号表示近端以及远端动脉之间统计学差异显著($P<0.05$)。(根据 Höffner *et al.*, 1989 a 资料修改,得到美国心脏协会的惠允)

G 毒毛旋花甙和内皮依赖性舒张

高浓度 G 毒毛旋花甙(ouabain)可抑制由乙酰胆碱诱导的犬股动脉(De Mey and Vanhoutte, 1980)和大鼠主动脉(Rapoport *et al.*, 1985)的舒张作用。

在犬冠状动脉中,G 毒毛旋花甙也抑制花生四烯酸诱导的、内皮依赖的、对吲哚美辛不敏感的舒张作用;而对乙酰胆碱、二磷酸腺苷(ADP)、凝血酶诱导的舒张作用无影响。利用改进的血管生物测试装置(三明治法或夹层法)证实花生四烯酸可诱导扩散性舒张介质的释放(Rubanyi and Vanhoutte, 1985 a)。用 G 毒毛旋花甙处理待测试血管环(无内皮)对舒张作用没有影响(Rubanyi and Vanhoutte, 1985 b)。然而,当有内皮的供体组织先用 G 毒毛旋花甙共同孵育后再与无内皮的待测血管环层叠时,花生四烯酸所产生的抑制效应被消除(图 1-3; Rubanyi and Vanhoutte, 1985 b)。G 毒毛旋花甙对花生四烯酸诱导内皮依赖性舒张作用的选择性效应表明,脂肪酸可刺激某种不同于其它内皮舒张因子成分的释放和/或以不同的途径刺激释放同一舒张介质。

在串联式血管灌流生物测试系统中(Rubanyi *et al.*, 1985),用先流经有内皮犬左旋支冠状动脉(作为供体动脉)的灌流液对无内皮冠状动脉环进行灌流,经G毒毛旋花甙孵育的生物测试血管环可降低基础条件的舒张作用或者乙酰胆碱诱导供体动脉内皮产生EDRF所诱导的舒张作用。然而,强心甙不能改变缓激肽灌流液激发的舒张作用(图1-4; Höffner *et al.*, 1989 a)。这些实验表明,G毒毛旋花甙可用于确定两种不同的内皮源性舒张因子。

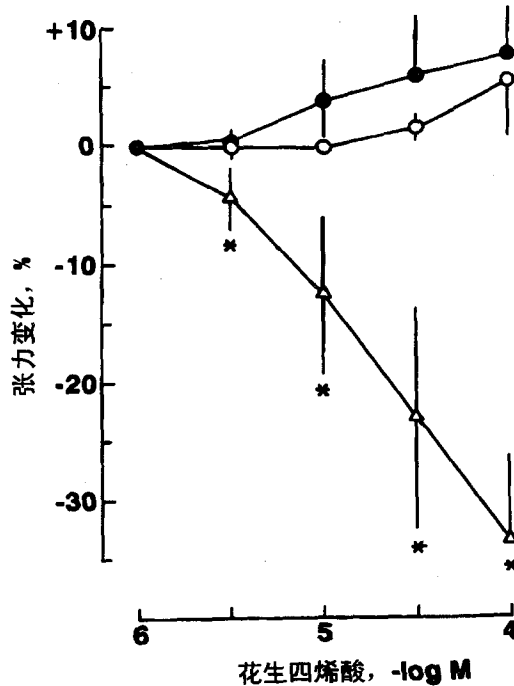


图1-3 用G毒毛旋花甙(5×10^{-6} M; 60分钟)对夹心法(三明治法)制备的犬冠状动脉进行处理,测量吲哚美辛(5×10^{-6} M)存在时,对花生四烯酸抑制反应的影响。花生四烯酸不降低PGF_{2α}(2×10^{-6} M)诱导外周血管(无内皮)的收缩作用(实心圆)。空心三角表示花生四烯酸对未经G毒毛旋花甙处理的血管标本(采用夹心法制备)所诱导的浓度依赖性舒张作用。经G毒毛旋花甙(5×10^{-6} M; 60分钟)处理的、夹心法制备的犬冠状动脉对花生四烯酸诱导的舒张有抑制作用(空心圆)。数据用均数±标准误(SEM)表示(n=5)。星号表示与未经处理的对照组比较经G毒毛旋花甙处理的实验组抑制花生四烯酸效应的统计学差异显著(P<0.05)。(根据Rubanyi and Vanhoutte, 1985 b 资料修改)

用在微珠载体上培养的内皮细胞来取代动脉片段进行上述类似实验(Boulanger *et al.*, 1989),发现G毒毛旋花甙孵育内皮细胞不影响基础的(图1-5)或经ADP刺激的血管环舒张作用,但可降低缓激肽(bradykinin)或钙离子载体A23187(calcium ionophore A23187)诱导的舒张作用(图1-6)。相反,用G毒毛旋花甙孵育的生物测试血管环可降低基础释放的EDRF和由ADP诱导的舒张作

用,但不影响缓激肽或钙离子载体 A23187 诱导的舒张作用(Boulanger *et al.*, 1989)。生物测试血管环用亚甲蓝(methylene blue)或血红蛋白处理,可消除缓激肽和外源性 NO 诱导的舒张作用。这些试剂只是部分地抑制了 ADP 诱导的舒张作用(图 1-7)。这些实验也提示培养的猪内皮细胞释放两种内皮源性舒张因子;一种是在基础条件和 ADP 刺激下释放的,另一种(可能是 NO)是经缓激肽和 A23187 刺激后释放的。

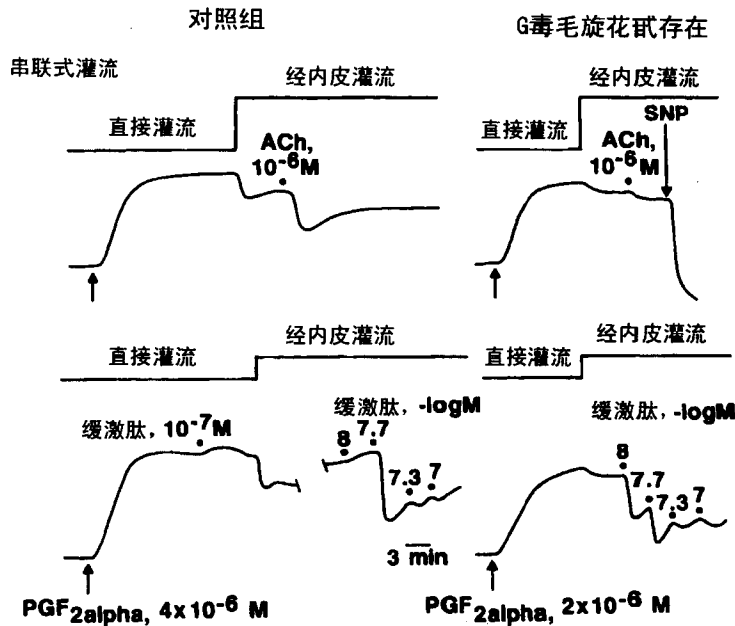


图 1-4 无内皮的冠状动脉环等容张力曲线。箭头表示用 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 处理预收缩。左侧曲线为对照状态下的灌流情况,右侧曲线为 G 毒毛旋花甙($5 \times 10^{-6} \text{ M}$)孵育后的灌流情况。首先进行直接灌流,当开始用流经有内皮的冠状动脉片段的灌流液灌流时,监测内皮对舒张因子的基础释放,并与乙酰胆碱(上)和缓激肽(下)的反应进行比较。SNP: 硝普钠, ACh: 乙酰胆碱。(根据 Höffner *et al.*, 1989 b 资料修改,得到美国心脏协会的惠允)

我们设计了一种电生理实验装置(Félétou and Vanhoutte),将有内皮的犬股动脉片段(作为 EDRF 的供体)和无内皮的犬冠状动脉(被测试生物组织)固定在器官小室中,测定其张力和膜电位。乙酰胆碱诱导被测试生物组织产生舒张作用和短暂性超极化。用 G 毒毛旋花甙处理的股动脉和冠状动脉,其舒张和超极化作用可被消除。当用 G 毒毛旋花甙孵育冠状动脉(被测试生物组织)一小时,然后洗去 G 毒毛旋花甙,再将犬股动脉(有内皮)引入器官小室后,乙酰胆碱可诱导冠状动脉产生舒张作用,但不再使血管平滑肌细胞产生超极化(Félétou and Vanhoutte, 1988; 图 1-8)。超极化被阻断而生物测试血管环仍持续舒张,表明存在两种不同的诱导活性物质,其中之一的作用可被 G 毒毛旋花甙处理的平滑肌所阻断,或者

EDRF 对血管平滑肌细胞有双重作用(细胞内 cGMP 和超极化增加),其中的效应之一(超极化)可被 G 毒毛旋花甙阻断。

结论

上述实验结果表明,在环氧化酶受到抑制时,内皮细胞能够释放不只一种舒张因子(图 1-9)。其中之一可使血管平滑肌细胞产生超极化。虽然 G 毒毛旋花甙对内皮细胞和血管平滑肌细胞有多种效应,但它对评价各种 EDRF 在内皮依赖性舒张作用中的效应仍不失为是一种有用的工具。非前列腺素类物质和非 NO 诱导的内皮依赖性超极化作用可能不是因为激活 Na^+K^+ 泵,而是因为开放了性质尚不明确的钾离子通道(Suzuki,1988; Chen and Suzuki,1989; Chen *et al.*,1989)。

本文简要介绍了内皮源性超极化因子(EDHF)的存在、性质和效应及其在生理和疾病模型中的最新进展。看来超极化因子最有可能成为另一类内皮依赖性舒张因子(EDRF)之一(Vanhoutte,1987 a and b,1989; Furchgott and Vanhoutte,1989; Komori and Vanhoutte,1990; Lüscher and Vanhoutte,1990; Vanhoutte,1993)。

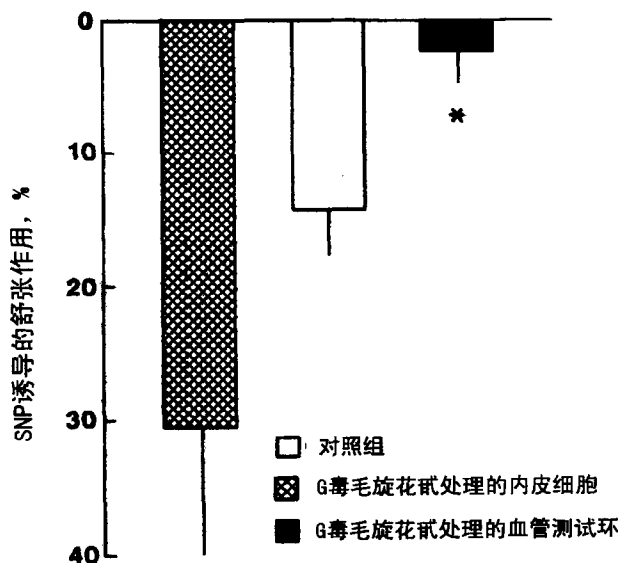


图 1-5 冠状动脉测试环对培养的猪内皮细胞基础释放的舒张因子的作用。对照条件下(中)对用 G 毒毛旋花甙处理的内皮细胞(左)和生物测试血管环(右)的反应性进行比较。为清楚起见,将用 G 毒毛旋花甙处理的两个对照组(内皮细胞和生物测试血管环)的结果放在一起(对照组, $n=18$; 用 G 毒毛旋花甙处理的生物测试血管环组, $n=13$; 用 G 毒毛旋花甙处理的内皮细胞组, $n=5$)。数据采用均数±标准误(SEM)表示。星号表示经 G 毒毛旋花甙处理的两组反应性存在显著的统计学差异($P<0.05$)。SNP: 硝普钠。(根据 Boulanger *et al.*, 1989 资料修改, 得到美国心脏协会的惠允)