

主编 钟慈声 孙安阳

一氧化氮的生物学

BIOMEDICINE OF NITRIC OXIDE

- 基础医学
- 临床医学
- 实验技术



上海医科大学出版社

一氧化氮的生物学

• 主 编 钟慈声 孙安阳

上海医科大学出版社

(沪)新登字 207 号

责任编辑:何剑秋

封面设计:朱仰慈

版面设计:丁 玮

责任校对:冯佳祺

一氧化氮的生物医学

主编 钟慈声 孙安阳

上海医科大学出版社出版发行

上海市医学院路 138 号

邮政编码 200032

新华书店上海发行所经销

上海科技文献出版社昆山联营厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 26.75 字数 650 000

1997 年 2 月第 1 版 1997 年 2 月第 1 次印刷

印数:1—4 000

ISBN 7-5627-0340-X/R · 320

定 价:49.90 元

内 容 提 要

本书系统深入地介绍了新发现的生物信使——一氧化氮(NO)在生物学和医学领域的最新研究进展。全书分三篇:第一篇系统地论述了NO的生物学和基础医学研究成果,包括NO有关的化学、细胞与分子生物学、生理学、病理生理学、药理学和药物治疗学等;第二篇重点论述了NO与临床多种疾病发生的相互联系,以及由此带来的对疾病的新认识和治疗的新思路,并较详细地介绍了吸入NO气体在临床的应用及其安全性;第三篇介绍了在各水平的NO检测技术。因而本书是一部兼重理论和实践的专著,对医学和生物学领域有关的科研人员、高校教师、临床医生、研究生和七年制医学生具有重要的参考和实用价值。

本书主要编著者

(按章节先后为序)

- 钟慈声 上海医科大学生物物理学教研室
孙安阳 上海医科大学医学神经生物学国家重点实验室
朱兴族 中国科学院上海药物研究所
杨藻宸 上海医科大学基础医学院药理学教研室
李晓玉 中国科学院上海药物研究所
赵红卫 中国科学院上海药物研究所
金惠铭 上海医科大学病理生理学教研室
张登海 第二军医大学附属长征医院博士后流动站
姚明辉 上海医科大学基础医学院药理学教研室
郑明芳 上海市第一人民医院心脏科
程介士 上海医科大学医学神经生物学国家重点实验室
潘家祐 上海医科大学药学院药理学教研室
孙 波 上海医科大学附属儿科医院儿科研究所
徐耀传 上海市第一人民医院消化科
成令忠 上海医科大学组织胚胎学教研室
吴兆龙 上海医科大学附属中山医院泌尿科
邵安华 上海市第一人民医院内分泌科
王洪复 上海医科大学老年医学研究中心
周武雄 上海医科大学生物物理学教研室
庄依亮 上海医科大学附属妇产科医院产科
顾玉东 上海医科大学附属华山医院手外科
徐建光 上海医科大学附属华山医院手外科
孔宪寿 上海医科大学病理生理学教研室
胥 彬 中国科学院上海药物研究所

其他参加写作人员

孟淑美 刘忠豫 王布尔 赵 鹏 董 裕 吴 萍 邓华云 刘 键 杨 茹

序

1980年前后,纽约州立大学 Furchgott 教授及其同事们发现内皮依赖性血管舒张现象,并提出这一现象是由内皮细胞释放所谓“内皮细胞舒血管因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)”的物质所介导。此后,多家实验室展开了对 EDRF 的特性和本质的研究。至 1986 年, Furchgott 和加州大学洛杉矶分校的 Ignarro 分别独立地提出 EDRF 的本质是一氧化氮(nitric oxide, NO)。1987 年,英国 Wellcome 实验室的 Palmer 等采用化学发光法比较直接地证明了内皮细胞确实可以释放 NO。此后虽有一些学者对 EDRF 的化学本质提出过另外一些设想,但目前认为 NO 是机体内重要的信使分子和效应分子的观点,已为学术界所广泛接受。

进入 90 年代,国际有关 NO 的研究跨入一个迅猛发展的阶段。NO 在多个系统的生理病理过程中所起的重要作用不断被阐明,使 NO 的研究渗入到众多学科,成为生物医学领域研究的热点和前沿之一。NO 在临床上也得到了初步应用,使某些以前不清楚的临床病理现象获得了较为合理的解释。1994 年和 1995 年,著名的生物医学文献检索系统 MEDLINE 收录的有关 NO 研究的论文,每年均达 2 500 篇以上。至 1996 年底,此势头方兴未艾。有关 NO 研究的一些重要结果或发现,其论文多数发表在《Nature》、《Science》、《Proc Natl Acad Sci USA》、《J Biol Chem》、《Neuroscience》、《Br J Pharmacol》、《Am J Physiol》等一些国际著名期刊上。世界著名的大学如耶鲁大学、约翰·霍普金斯大学、杜克大学、康乃尔大学、剑桥大学等均有规模不小的 NO 研究队伍,有些将 NO 作为其主要的研究方向。一些著名的制药公司也跃跃欲试,试图开发出调节 NO 的理想药物供临床使用。

近年来,国内有关 NO 的研究工作也逐步增多,在北京和上海有些条件适宜的医院还开展了吸入 NO 气体的基础和临床研究。然而,从事 NO 研究的同道时常感到目前国内尚缺少一本全面系统论述 NO 的专著,以帮助研究者在浩如烟海的文献中能便捷地对自己感兴趣的方面获得较全面的和有一定深度的知识和资料。

本书编著者们敢为人先,承担起这一艰巨任务,努力以最新资料和最快速度,满足同道们的迫切需求。本书从基础和临床各系统以及实验室技术三方面全面论述国内外 NO 研究的现状,在国内外尚未见如此全面论述 NO 的类似著作。

本书编著者中既有各学科著名的专家,也有一些年轻的博士和博士后研究人员。他们选用资料力求先进性和权威性,以近三年的资料为主,尤其注意 1996 年的最新研究成果。他们从 1996 年初酝酿编写,拟定编写大纲,至同年 7 月定稿,仅用半年左右时间。这是参加编著的同志们同心协力、奋发进取精神的结晶。

相信本书的出版将会对国内的 NO 研究及相关领域的发展起到积极的推动作用,并对有关 NO 的知识最终应用于临床作出应有的贡献。

上海医科大学专家委员会 主任 萧俊

前言

一氧化氮(nitric oxide, NO)这个小分子物质在生物体内作为重要的信使分子和效应分子是在 80 年代后期才被发现和证实的,广泛深入的研究在 90 年代才蓬勃发展。虽然对 NO 研究的时间并不长,但其迅速发展为当代生物医学研究的热点和前沿之一,并继续展示方兴未艾的势头。世界上较著名的大学大多数建立了有关 NO 的研究小组。NO 成为研究热点主要有两方面的原因:① NO 作用的广泛性,参与体内众多的生理病理过程,并已有临床应用,而且可能有新的临床应用前景,这使生物医学工程领域和制药公司的专家也加入到开发研制 NO 药物的行列中来;② NO 是迄今在体内发现的第一个气体性信息分子,对今后其他信使的发现有重大启发。

上海是国内有关 NO 研究起步较早且研究力量较集中的地区。由于 NO 基础和临床研究的迅猛发展,文献资料浩如烟海,重大概念也时有更新,新的研究技术也不断应用于本领域。研究者时常感受到缺乏一本既系统深入地介绍 NO 有关的基础理论和实验技术,又反映新概念、新进展的专著。从最新的文献资料看,国外仅编著过 NO 在某一系统或某一方面作用的专著,并不全面。这使得编写本书有更大的挑战性和更高的应用价值。编写本书的目的是便于读者用较少的时间全面了解 NO 的研究现状、存留的问题和未来的方向,同时,使从事 NO 研究不久的基础和临床工作者迅速接近本领域的前沿,并在此基础上发现问题,开展自己的研究。也希望本书对临床医生和高校师生了解 NO 的知识有所裨益。

参加本书编著的作者既有国内久享盛名的专家,也有少数初出茅庐的青年学者。绝大多数作者是直接从事 NO 基础或临床研究的,有自身的研究体会。编著过程中,力求在选材上体现权威性和先进性,在章节安排上体现系统性和实用性,在观点上体现客观性。参照国外专著的编纂格式,重要结果均列出文献出处,便于读者必要时追踪,同时也增大了本书的信息量。

本书的出版受到上海医科大学出版社的重视和支持,使之在短短半年左右的时间就完成了本书的出版工作,保证了本书内容的先进性。另外,上海医科大学图书馆杨力等老师在文献资料的收集上给予了大力帮助。最后,谨向本书所引用资料的研究者表示衷心的感谢!

限于作者的知识水平和众多作者写作风格的差异,本书肯定会有不妥之处,敬请读者指正。

钟慈声 孙安阳

1996 年 10 月

目 录

第一篇 基础医学及生物学

1	一氧化氮的化学	钟慈声 孙安阳(3)
1.1	一氧化氮生物信使作用的发现	(3)
1.2	一氧化氮的生物合成	(6)
1.3	一氧化氮生物合成的调节	(9)
1.4	一氧化氮的代谢	(11)
1.5	一氧化氮的化学特性	(11)
2	一氧化氮分子水平的作用	孙安阳 钟慈声(15)
2.1	一氧化氮到达靶分子的方式	(16)
2.2	一氧化氮的细胞内信号转导	(16)
2.3	一氧化氮作为细胞毒性分子	(22)
3	一氧化氮合酶的细胞与分子生物学	孙安阳(27)
3.1	一氧化氮合酶亚型的命名	(28)
3.2	一氧化氮合酶的组织与细胞分布	(28)
3.3	一氧化氮合酶的生物化学特性	(30)
3.4	一氧化氮合酶的蛋白质结构	(31)
3.5	一氧化氮合酶亚型的 cDNA	(33)
3.6	一氧化氮合酶亚型的基因结构和染色体定位	(34)
3.7	一氧化氮合酶表达的调节	(35)
3.8	一氧化氮合酶基因敲除的小鼠表型	(39)
4	一氧化氮的循环系统生理学	钟慈声 孙安阳(46)
4.1	一氧化氮对血管张力、血压及器官血流量的调节	(47)
4.2	抑制血细胞粘附于内皮	(49)
4.3	抑制血管壁内皮下细胞增殖	(49)
4.4	一氧化氮对血管通透性的影响	(50)
4.5	一氧化氮对心肌收缩性的影响	(51)
4.6	一氧化氮对压力感受性反射的作用	(51)
4.7	一氧化氮与血小板功能	周武雄(52)
5	一氧化氮的中枢神经生理学	朱兴族 孙安阳(60)
5.1	中枢神经系统中一氧化氮合酶的分布	(61)
5.2	中枢神经系统中一氧化氮的生物合成及其调节	(61)
5.3	中枢神经系统中一氧化氮的作用	(62)

6 一氧化氮在外周神经传递中的作用	孙安阳 杨藻宸(71)
6.1 外周存在氮能神经传递的证据	(72)
6.2 氮能神经递质的化学本质	(74)
6.3 氮能神经传递的机制与特点	(76)
6.4 一氧化氮和氮能神经递质介导的内脏平滑肌收缩	(82)
6.5 氮能神经传递起重要作用的几种组织	(83)
7 一氧化氮在免疫系统中的作用	赵红卫 李晓玉(89)
7.1 免疫活性细胞中的一氧化氮合酶	(90)
7.2 一氧化氮对免疫功能的影响	(90)
7.3 一氧化氮与细胞因子的相互关系	(96)
7.4 一氧化氮调节免疫功能的机制	(97)
8 一氧化氮的病理生理学	金惠铭 孟淑美(101)
8.1 一氧化氮与自由基	(102)
8.2 一氧化氮的生成过多	(106)
8.3 一氧化氮的合成障碍	(112)
9 一氧化氮与细胞凋亡	张登海(119)
9.1 细胞凋亡——群体细胞重要的调节机制	(119)
9.2 一氧化氮诱导凋亡的实验观察	(120)
9.3 一氧化氮影响细胞凋亡的机制	(122)
9.4 问题与展望	(126)
10 一氧化氮相关药物的药理学及药物学	(132)
10.1 L-精氨酸	孙安阳(133)
10.2 一氧化氮供体	(139)
10.3 一氧化氮合酶抑制剂	(146)
10.4 一氧化氮清除剂	姚明辉(151)
10.5 某些药物的药理作用与一氧化氮的相关性	(152)

第二篇 临床医学

11 一氧化氮与心血管疾病	孙安阳 钟慈声(171)
11.1 心肌缺血再灌注损伤	(172)
11.2 败血症休克	(175)
11.3 动脉粥样硬化	(179)
11.4 动脉成形术后再狭窄	(180)
11.5 高血压病	(181)
11.6 充血性心力衰竭	(184)
11.7 肺动脉高压	郑明芳 刘忠豫(185)

12 一氧化氮与神经系统疾病	(195)
12.1 一氧化氮与脑缺血	程介士等(196)
12.2 一氧化氮与癫痫	(202)
12.3 一氧化氮与早老性痴呆症	潘家桔(204)
12.4 一氧化氮与帕金森症	(206)
12.5 一氧化氮与病毒性脑炎	(209)
12.6 一氧化氮与多发性硬化症	(210)
12.7 一氧化氮与偏头痛及其他类型头痛的关系	朱兴族(211)
12.8 一氧化氮与痛觉调制	(212)
12.9 一氧化氮与吗啡耐受和依赖	(213)
13 吸入一氧化氮在肺部疾病中的治疗应用和安全性	孙 波(218)
13.1 肺内一氧化氮的生成、生理病理作用和代谢	(219)
13.2 建立一氧化氮气体吸入疗法的条件	(222)
13.3 吸入一氧化氮治疗持续肺动脉高压征的实验研究	(224)
13.4 一氧化氮的临床试验应用	(226)
13.5 吸入一氧化氮的毒理和安全性	(231)
14 一氧化氮与消化系统疾病	(238)
14.1 一氧化氮与胃肠道	徐耀传(238)
14.2 一氧化氮与胰腺	(241)
14.3 一氧化氮与肝脏	成令忠 吴 萍(242)
15 一氧化氮与肾脏疾病	吴兆龙(250)
15.1 肾脏一氧化氮合酶的分布	(251)
15.2 一氧化氮的肾脏效应	(251)
15.3 一氧化氮与肾脏病理	(254)
15.4 一氧化氮调节药物的肾脏药理	(258)
15.5 肾内一氧化氮与某些生物活性物质的相互作用	(259)
16 一氧化氮与糖尿病	邵安华 孙安阳(265)
16.1 一氧化氮参与糖尿病发病	(266)
16.2 一氧化氮与糖尿病并发症	(269)
16.3 一氧化氮与糖尿病治疗	(273)
17 一氧化氮与骨关节疾病	王洪复 邓华云(278)
17.1 骨关节内一氧化氮的生成和调节	(279)
17.2 骨关节内一氧化氮的作用	(282)
17.3 一氧化氮与骨关节疾病的发生	(285)
17.4 调节一氧化氮量治疗骨关节疾病	(287)

18 一氧化氮与骨骼肌、运动及肌病	钟慈声 孙安阳(291)
18.1 骨骼肌中一氧化氮合酶的分布	(291)
18.2 一氧化氮对骨骼肌运动及代谢的作用	(293)
18.3 运动锻炼对一氧化氮生成和血管反应性的作用	(294)
18.4 一氧化氮与肌肉疾病	(295)
19 一氧化氮与眼	周武雄 孙安阳(299)
19.1 一氧化氮合酶在眼中的表达	(300)
19.2 一氧化氮对视觉系统的作用	(301)
19.3 一氧化氮对眼血液循环的作用	(303)
19.4 一氧化氮与眼部疾病的关系	(304)
20 一氧化氮与女性生理及生殖	庄依亮(309)
20.1 一氧化氮与女性生理	(309)
20.2 一氧化氮与绝经后妇女雌激素替代治疗	(310)
20.3 一氧化氮与妊娠、分娩的病理生理	(311)
20.4 一氧化氮与早产和胎膜早破	(313)
20.5 一氧化氮与脐血管	(314)
20.6 一氧化氮在胎鼠生长发育迟缓及后肢坏死中的作用	(315)
21 一氧化氮与组织移植	顾玉东 徐建光(317)
21.1 组织移植时一氧化氮的改变	(317)
21.2 抑制一氧化氮生成对移植存活的影响	(320)
21.3 促进一氧化氮通路对组织移植的作用	(321)
21.4 吸入一氧化氮预防组织移植并发症	(323)
22 一氧化氮与微生物和寄生虫感染	孔宪寿(327)
22.1 一氧化氮的生物合成和调节	(327)
22.2 一氧化氮与微生物感染	(328)
22.3 一氧化氮与寄生虫感染	(330)
22.4 一氧化氮抗微生物和寄生虫感染的作用机制	(333)
23 一氧化氮与肿瘤	胥彬 刘键(339)
23.1 一氧化氮与肿瘤生物学	(339)
23.2 一氧化氮在抗肿瘤中的潜在作用	(342)

第三篇 一氧化氮的检测方法

24 一氧化氮的检测	孙安阳 周武雄(355)
24.1 重氮化反应法	(357)
24.2 化学发光法	(358)

24.3	荧光分光光度法	(361)
24.4	高效离子色谱法	(362)
24.5	电子顺磁共振法	(363)
24.6	电极法	(364)
24.7	甲基血红蛋白法	(365)
24.8	环鸟苷酸测定法	(366)
24.9	脑内微透析法	(367)
24.10	生物检定法	(369)
25	一氧化氮合酶活性的测定	(372)
25.1	同位素标记法	潘家枯(373)
25.2	高效液相层析法	(378)
25.3	荧光法	(381)
25.4	分光光度法	(384)
25.5	鸟苷酸环化酶活性组织化学检测法	钟慈声(385)
25.6	NADPH-黄递酶组织化学染色法	孙安阳(388)
26	一氧化氮合酶 mRNA 的检测	(391)
26.1	反转录-聚合酶链反应检测一氧化氮合酶 mRNA	孙安阳(392)
26.2	Northern 杂交和原位杂交检测一氧化氮合酶 mRNA	杨 茹(395)
汉文索引		(401)
英文索引		(406)

第 一 篇

基础医学及生物学



1 一氧化氮的化学

1.1 一氧化氮生物信使作用的发现[3]

- 1.1.1 内皮细胞舒血管因子的发现[4]
- 1.1.2 内皮细胞舒血管因子本质的研究[4]

1.2 一氧化氮的生物合成[6]

- 1.2.1 一氧化氮合成的酶促反应步骤[6]
- 1.2.2 一氧化氮合酶的辅助因子[7]
 - 1.2.2.1 黄素腺嘌呤二核苷酸和黄素单核苷酸[7]
 - 1.2.2.2 四氢叶酸[8]
- 1.2.3 钙调蛋白在一氧化氮合成电子传递中的作用[9]

1.3 一氧化氮生物合成的调节[9]

- 1.3.1 一氧化氮合酶的调节[9]
 - 1.3.1.1 Ca^{2+} 和钙调蛋白的调节[9]
 - 1.3.1.2 磷酸化调节[10]
 - 1.3.1.3 细胞因子的调节[10]
- 1.3.2 底物可用度[10]
- 1.3.3 辅助因子可用度[10]
- 1.3.4 亚基聚合[10]

1.4 一氧化氮的代谢[11]

1.5 一氧化氮的化学特性[11]

1.1 一氧化氮生物信使作用的发现

一氧化氮(nitric oxide, NO)是一种自由基性质的气体,为污染空气的常见有毒成分之

一。早期发现人体内有亚硝酸盐和硝酸盐($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$)生成^[1],这虽对 NO 的发现有一定启发,但直接导致体内 NO 生物信使作用的发现却是有关内皮依赖性血管舒张的研究^[2]。

1.1.1 内皮细胞舒血管因子的发现

内皮依赖性血管舒张(endothelium-dependent relaxation)这一现象的发现史最早可追溯至 1953 年^[3],当时,美国纽约州立大学药理系 Furchgott 教授的实验室采用兔胸主动脉螺旋条标本来研究血管平滑肌上药物、受体间的相互作用。在这样的螺旋条标本上,无论是否用去甲肾上腺素预先收缩,血管扩张剂卡巴胆碱或乙酰胆碱(CCh 或 ACh)从未产生血管舒张,却矛盾地引起收缩。当时他们曾错误地假设:血管平滑肌上可能存在兴奋和抑制两套胆碱能受体。1978 年,他们实验室用兔主动脉离体标本(包括主动脉环和螺旋条)研究 β 肾上腺素受体亚型,在一次偶然的加药和冲洗错误中,第一次发现标本对拟胆碱药产生松弛反应。而那次所用的标本是主动脉环,而不是螺旋条。通过比较主动脉螺旋条和主动脉环的反应差异,发现凡操作顺利、损伤极轻的主动脉环对 ACh 多产生舒张反应,而按标准方法制备的螺旋条,内皮已被无意识刮除,对 ACh 产生收缩反应。提示 ACh 的血管舒张反应依赖于内皮细胞的存在。至 1979 年,他们又采用所谓“三明治夹心标本(sandwich)”证实 ACh 作用于血管内皮,产生一种非前列腺素类的弥散因子,后者作用于邻近的平滑肌细胞而产生舒张反应^[3]。1980 年初,Furchgott 和 Zawadski 将这篇题为“The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine”的论文全文投送英国 Nature 杂志,并未被立即接受,其中一位审稿者对该论文的严密性持怀疑看法。几经周折,该文被减缩成来信形式,刊登于 1980 年 11 月末的一期 Nature 杂志上。

自该文发表后,他们又发现其他许多物质如 ATP、ADP、钙离子载体 A23187 和 P 物质在离体血管上可引起一个非前列腺素介导的内皮依赖性松弛。与上述药物不同的是缓激肽在兔动脉环上产生不依赖于血管内皮而由前列腺素介导的动脉松弛。然而,Furchgott 的实验室不久又发现缓激肽在犬和人动脉引起内皮依赖性松弛^[4]。在这篇论文中(1982 年),缓激肽诱导血管松弛的内皮细胞介质首次被称为内皮细胞舒血管因子(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)。

1.1.2 内皮细胞舒血管因子本质的研究

80 年代初,Furchgott 等采用“三明治”生物检定系统证明了 EDRF 的激素本质,即由内皮细胞释放,作用于附近血管平滑肌。该系统包括一个内皮完整的主动脉条或环作为 EDRF 供体,另一去内皮的动脉条或环作为检测部分。用 ACh 刺激供体动脉,观察检测动脉的舒张。另外,还可用血管内皮细胞培养液灌流一系列去内皮的动脉(瀑布灌流)。通过上述生物检定系统发现 EDRF 的半衰期很短,在通氧的营养液中仅为几秒钟。EDRF 的效应可被血红蛋白、亚甲蓝、二硫苏醇糖、氢醌等抑制。同时还证实 EDRF 的效应是经刺激可溶性鸟苷酸环化酶,增加细胞内 cGMP 水平介导的^[5]。此外,超氧阴离子(O_2^-)可加剧 EDRF 的不稳定性,加入超氧化物歧化酶(SOD)及细胞色素 C 可延长 EDRF 的效应;亚铁(Fe^{2+})、缺氧和能产生 O_2^- 的物质抑制之。但 SOD 在体内对 EDRF 效应无影响。

基于 EDRF 和 NO 药理学行为极为相似,1986 年 Furchgott 和 Ignarro(加州大学洛杉矶分校)分别独立提出:EDRF 可能就是 NO。1987 年 Palmer 等用化学发光法(详见第三篇)

结合瀑布灌流证明培养的内皮细胞可产生 NO。利用该方法发现,缓激肽在刺激猪主动脉内皮细胞释放 EDRF 的浓度下,也可浓度依赖性地刺激 NO 释放。NO 的释放量足可引起动脉条的舒张。EDRF 和 NO 引起的血管松弛均可被血红蛋白同等程度地抑制,被 SOD 同等程度促进。从生物学活性上,EDRF 和 NO 难以区分^[6]。此外,NO 的释放也可解释 EDRF 对血小板聚集和粘附的抑制。EDRF 和 NO 对血小板的抑制也可被 SOD 及细胞色素 C 加强,被 Fe^{2+} 抑制。这些结果支持 Furchgott 等的推测,即 EDRF 就是 NO。随后,Garthwaite 又提供了 NO 在神经系统起作用的第一个证据^[7]。大鼠小脑细胞 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体受激活后,cGMP 水平升高时伴有一种 EDRF 样物质释放,该物质作用于邻近细胞,是导致 cGMP 升高的原因。

从上述一系列标志性发现,NO 可能在多种细胞或组织中起生理病理作用的研究拉开了帷幕,成为当代生物医学研究的一大热点。

尽管有人认为 EDRF 即为 NO 已获得较多的证据,但是,有一些报道的研究结果对上述结论提出质疑。不一致结果包括,① EDRF 与 NO 半衰期有差异;② EDRF 和 NO 与阴离子交换柱的亲和力不同;③ EDRF 与 NO 对不同平滑肌标本作用有差异等^[5]。

EDRF 的半衰期($T_{1/2}$)变异较大,在 3~50s 范围。变异超过报道的 NO 半衰期。这一差异可用在不同情况下 O_2 和 O_2^- 对 NO 失活相对贡献大小不同来解释, O_2 可与 NO 快速反应生成 NO_2 , NO_2 在液体中转变为 NO_2^- 和 NO_3^- ,后两者对血管条和血小板均无活性。NO 与 O_2^- 反应生成 NO_3^- 。

EDRF 可结合于阴离子交换柱而 NO 与之无结合。但也有人报道 NO 与阴离子交换柱可有少量结合。NO 不是阴离子。EDRF 和 NO 与阴离子交换柱结合也可能是一种化学反应。

有些学者报道,EDRF 仅松弛血管平滑肌,而 NO 松弛血管、气管和结肠平滑肌。豚鼠气管条对灌流液中 NO 的敏感性较兔主动脉条大约低 30 倍。提示,要产生气管松弛所需的 EDRF 量超过培养介质中猪主动脉内皮的 EDRF 释放量。因为上述提出不同意见的研究者未能显示 EDRF 与 NO 等效剂量比较,因而他们的资料较难分析。此外,有些实验室报道 EDRF 在适当实验条件下也可松弛非血管平滑肌标本。

EDRF 在酸性环境下稳定,而 NO 可能无此情况。NO 转化为 NO_2^- 在酸性环境中可再生成 NO。与此一致的是 NO_2^- 与 EDRF 的稳定型具有类似的色谱迁移特性。

EDRF 较 NO 稳定。冻干后再融化仍保留大部分活性,提示 EDRF 可能是较稳定的前体,有人认为这种前体是 NO_2^- 。另一种解释是,缓激肽刺激内皮细胞释放 NO 与另一种物质,后者与 NO 反应生成一个较稳定的产物,其在 37℃ 时,与组织接触可释出 NO。

由于存在上述差异,有人又提出一些其他物质作为 EDRF 的候选者,这些候选者包括 S-亚硝基-半胱氨酸^[8]、二硝酰-铁-半胱氨酸复合物(DNIC)^[9]、羟胺^[10]。

最近 Moncada 的实验室采用瀑布灌流生物检定方法比较了 NO、EDRF 和 EDRF 其他的候选者在稳定性和药效动力学特征方面的差异。结果显示,S-亚硝基硫醇、DNIC、硝酰钠和羟胺可从候选名单上去除,因为它们较 EDRF 稳定,不易被氧化血红蛋白抑制。用半胱氨酸灌流显示,另外两个候选者 S-亚硝基-半胱氨酸和 S-亚硝基-半胱胺也不同于 EDRF,因为半胱氨酸在此生物检定系统中可减弱 NO 和 EDRF 的效应,但促进表 1-1 中剩余的两个候选者的效应^[11]。结果支持 EDRF 即为 NO。