

血红素加氧酶-1 系统和心脏移植

吴龙 孙宗全

血红素加氧酶(血红素氧化酶 heme oxygenase, HO)是血红素降解的起始酶和限速酶,催化血红素降解为胆色素、CO 和自由铁,在体内以 HO-1、HO-2、HO-3 三种形式存在,HO-1 为诱导型 另外两种为组成型 血红素是 HO-1 的主要作用底物 各种非血红素因素包括重金属、细胞因子、激素、内毒素、热休克、化学物质及氧化刺激等均可诱导 HO-1 大量表达

HO-1 反应体系的三大代谢产物均有较强的生理作用。胆色素具有较强的抗氧化作用,是体内内源性抗氧化防御体系的重要组成部分;CO 是重要的细胞信息分子,除调节血管张力,还具有抗炎、抗细胞凋亡和抑制平滑肌增殖等作用^[1-3];游离铁可与蛋白螯合形成铁蛋白,减轻细胞损伤。血红素加氧酶-1 及其降解血红素的代谢产物称为血红素加氧酶-1 (HO-1)系统。

HO-1 系统在心脏移植中的作用

几乎所有的移植脏器均有不同程度的缺血/再灌注损伤,缺血/再灌注损伤不仅导致移植早期失去功能,而且是造成慢性排斥反应的重要因素。实验证实,诱导 HO-1 在心脏过表达可以减轻供体遭受缺血/再灌注损伤^[4]。

HO-1 及其作用产物介导的免疫调节效应可以明显延长同种心脏移植物的存活时间^[5],其竞争性拮抗剂(如原卟啉锌 ZnPP)抑制 HO-1 活性,抵消 HO-1 过表达引起的生物效应^[4]。Hancock 等^[6]发现,HO-1 过表达可以减轻移植动脉粥样硬化,与只用 CD₄ 单抗相比,联合应用 HO-1 诱导剂(CoPP)和 CD₄ 单抗几乎可以完全抑制免疫球蛋白和补体沉积。腺病毒包装 HO-1 基因转染血管壁或利用二氯甲烷释放 CO,可以显著减轻同种主动脉粥样硬化,其机制与黏附分子、协同刺激分子和细胞因子的表达密切相关^[7]。

异种心脏移植受体予以眼镜蛇毒因子(CVF)和环孢菌素(CsA),供体心脏可以长期存活,这种控制条件下移植物的长期存活称为“适应”。适应依赖于移植血管组织“保护基因”的表达,如 A20、bcl-2、bcl-xl 和 HO-1 等,其中 HO-1 最为重要^[8]。Soares 等^[9]的实验发现,在小鼠至大鼠异种移植模型上,予以 CVF 和 CsA 处理受体获得长期耐受的供心内皮细胞和平滑肌细胞上存在 HO-1 的表达;将 HO-1 基因敲除(HO-1^{-/-})小鼠移植给大鼠并予以 CVF 和 CsA 治疗,结果发生排斥反应,而在相同控制条件下野生型(HO-1^{+/+})小鼠心脏移

植长期存活^[9]。

HO-1 系统在心脏移植中的作用机制

(1)抗氧化。HO-1 系统可保护细胞免受氧化刺激损伤,其机制主要为控制细胞内自由铁水平;产生胆色素;释放 CO;合成铁结合蛋白。

缺血/再灌注早期,红细胞受损释放出血红素,直接攻击或通过氧自由基破坏脂质双分子层、细胞骨架、代谢酶和 DNA。清除血红素可能是 HO-1 系统减轻缺血/再灌注损伤的第一步,同时 HO-1 降解血红素的系列转化过程需消耗 3 分子氧和 7 个电子,此过程对氧化刺激损伤可产生间接的抑制作用。

胆色素可以消除氧自由基、氧、脂质氢过氧化物等,这种内源性抗氧化作用可以保护细胞免于氧化损伤。临床研究发现,胆绿素和胆红素可以抑制动脉粥样硬化的形成,增加血清胆红素的浓度可能为减轻移植动脉粥样硬化提供新的策略^[10]。

铁超载使移植器官受金属介导的损伤和纤维化的危险性加大^[11]。HO-1 系统释放的游离铁很快螯合形成铁蛋白,这种螯合作用通过清除自由铁缓解细胞的前氧化状态。研究证实,铁蛋白在氧化损伤模型中具有细胞保护作用,可使细胞毒性明显减弱;而铁蛋白随着 HO-1 的表达上调增加,反之亦然。促进细胞内铁的流出是 HO-1 系统细胞保护的机制之一。有研究发现^[12],HO-1 基因缺陷鼠的成纤维细胞中铁堆积造成细胞死亡,而转入 HO-1 基因后细胞内铁外流增强,细胞得以保存。近来有报道证实,HO-1 过表达可以上调并与内质网铁 ATP 酶相作用,一旦 HO-1 活性上调,这种铁泵可以降低细胞内铁浓度^[13]。

(2)维持微循环稳定。CO 是 HO-1 作用下的主要产物,有调节血管张力的作用。与 NO 作用机制相似,CO 激活可溶性鸟苷酸环化酶,增加细胞内 cGMP 水平,引起平滑肌松弛,血管舒张。HO-1 系统可减少移植动脉粥样硬化和栓塞的发生,在抑制 HO-1 活性的条件下,外源性 CO 也可以抑制排斥反应,其机制为抑制血小板聚集,减少栓塞和细胞凋亡^[8]。

(3)抗凋亡。细胞凋亡是移植器官再灌注损伤和排斥反应发生的重要因素。大量研究证实,HO-1 或 CO 可以抑制缺血/再灌注损伤、同种和异种移植中细胞凋亡的发生^[4,6,8,14]。其机制与下调 TNF- α 、FasL、iNOS、Caspase-3 增加 Bcl-2 Bag-1 的表达有关^[14,15],同时可能需要 NF- κ B 的激活^[16]。Brouard 等^[3]

丝裂原激活蛋白激酶旁路所介导。

(4) 抑制增殖。缺氧或慢性排斥反应可造成血管重塑, 表现为炎性细胞浸润、血管平滑肌细胞增殖、迁移和动脉壁细胞外基质的沉积。离体和在体实验显示, 诱导 HO-1 表达可上调细胞周期激酶抑制因子 P21, 抑制血管平滑肌细胞生长^[17]。在 VSMC 系, CO 产物增加或将细胞暴露于外源性 CO, 可降低细胞的生长反应性, 这种作用继发于细胞周期调节关键因子 E2F-1 的抑制^[3]。在慢性缺氧的环境中, 与野生型相比, HO-1 转基因鼠的致炎细胞因子含量明显下降, 肺炎性反应、肺动脉高压、血管壁增生等均受到抑制^[18]。

(5) 抗炎与免疫调节作用。HO-1 系统的抗炎和免疫调节作用与其调节黏附分子、趋化因子、细胞因子的表达和淋巴细胞的活性密切相关。HO-1 和胆色素可改变肺、肾、肝和小肠 P、E 选择素的表达, 从而减轻白细胞浸润^[19]。HO-1 系统通过下调 iNOS 抑制 NO 系统而发挥其抗排斥效应^[4]。二氯甲烷经谷胱甘肽依赖途径代谢为 CO 和 CO₂ 在大鼠肝脏同种移植模型上显示具有免疫抑制效应, 其机制与 T 细胞从 Th1 (TNF- α 、干扰素- γ 、IL-2) 向 Th2 (IL-4、IL-10) 偏移有关^[15]。低浓度 CO 可以选择性下调脂多糖诱导的前炎症细胞因子 (TNF- α , IL-1B, MIP-1) 的表达, 同时增加 IL-10 水平^[1]; 而 IL-10 可通过 P38 丝裂原激活蛋白激酶旁路途径诱导 HO-1 表达发挥其抗炎作用^[20]。大鼠 HO-1 上调可以明显改善脂肪肝和正常肝脏缺血/再灌注的门静脉血流, 促进胆汁排泌, 减轻肝细胞损伤; 其机制与减少 T 细胞, 特别是抑制巨噬细胞的浸润和激活有关^[21]。

血红素加氧酶与人类白细胞抗原-I 衍生肽

来源于人类白细胞抗原-I (HLA-I) 类分子重链不同区域的肽段可以通过影响 T 细胞反应发挥免疫调节作用, 与此区域相对应的肽以非等位基因限制的方式阻止 CTL 前体的进一步分化, 而且以同样的方式抑制 T 细胞、NK 细胞的溶解靶细胞作用。联合给予肽 (07. 75-84) 及亚治疗剂量的 CsA 可以使大鼠同种移植心脏无限期存活; 在其慢性排斥模型中, 隔日给予 HLA-B7 (07. 75-84) 加低剂量的 CsA, 可以抑制动脉粥样硬化的发生。目前对肽的这种免疫调节作用机制有诸多假说, 如与 TCR 相互作用、MHC 的间接递呈作用、与相关受体的作用等。

近来, 人们把目光集中在肽与 HO-1 的关系上。为阐明肽介导免疫调节的特异性, 对肽的序列进行了多种调整, 体外实验观察到免疫调节肽的活性与酶活性抑制相一致。合成肽 D2702 75-84(E \rightarrow V) 以剂量依赖的方式与 HO-1 相结合抑制酶的活性, 它在体外和在体均显示了更强的免疫调节作用。Grassy 等^[22]根据具有免疫调节活性的肽段的不同生化 and 结构特点, 随机设计出一组肽, 其中 RDP1258 不仅可以延长大鼠和小鼠同种移植物的存活时间, 而且体外实验显示它们能够抑制 HO-1 的活性。因此认为, HO-1 衍生物肽的免疫调节作用与

展 望

血红素加氧酶-1 系统具有广泛的细胞保护作用, 在心脏移植中表现在缺血/再灌注损伤、同种移植急性和慢性排斥反应、异种移植排斥反应等方面。研究发现, HO-1 可被不同的刺激所诱导, 现有的文献资料显示, 基因工程在特异性诱导 HO-1 的表达上效果更佳, 许多载体如腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒和脂质体已用来上调 HO-1 的表达, 有效地保存了移植物的活性, 延长了存活时间。总之, HO-1 系统在心脏移植的保护机制尚需进一步阐明, 在其他病理生理过程中的作用也值得进行深入研究。

参考文献

- 1 Otterbein LE, Bach FH, Alam J, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat Med*, 2000, 6: 422—428.
- 2 Togane Y, Morita T, Sumatsu M, et al. Protective roles of endogenous carbon monoxide in neonatal development elicited by arterial injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 278: H623—632.
- 3 Brouard S, Otterbein LE, Annather J, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med*, 2000, 192: 1015—1026.
- 4 Coito AJ, Shaw GD, Li J, et al. Selectin-mediated interactions regulate cytokine networks and macrophage heme oxygenase-1 induction in cardiac allograft recipients. *Lab Invest*, 2002, 82: 61—70.
- 5 Chok MK, Senechal M, Dorent R, et al. Apoptosis and expression of heme oxygenase-1 in heart transplant recipients during acute rejection episodes. *Transplant Proc*, 2002, 34: 3239—3240.
- 6 Hancock WW, Buelow R, Sayegh MH, et al. Antibody-induced transplant arteriosclerosis is prevented by graft expression of anti-oxidant and anti-apoptotic genes. *Nat Med*, 1998, 4: 1392—1396.
- 7 Chauveau C, Bouchet D, Roussel JC, et al. Gene transfer of heme oxygenase-1 and carbon monoxide delivery inhibit chronic rejection. *Am J Transplant*, 2002, 2: 581—592.
- 8 Sato K, Balla J, Otterbein L, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses the rejection of mouse-to-rat cardiac transplants. *J Immunol*, 2001, 166: 4185—4194.
- 9 Soares MP, Lin Y, Annather J, et al. Expression of heme oxygenase-1 can determine cardiac xenograft survival. *Nat Med*, 1998, 4: 1073—1077.
- 10 Mayer M. Association of serum bilirubin concentration with risk of coronary artery disease. *Clin Chem*, 2000, 46: 1723—1727.
- 11 Lu F, Zander DS, Visner GA. Increased expression of heme oxygenase-1 in human lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 2002, 21: 1120—1126.
- 12 Ferris CD, Jaffrey SR, Sawa A, et al. Haem oxygenase-1 prevents cell death by regulating cellular iron. *Nat Cell Biol*, 1999, 1: 152—157.

- 14 Katori M, Buelow R, Ke B, et al. Heme oxygenase-1 overexpression protects rat hearts from cold ischemia/reperfusion injury via an antiapoptotic pathway. *Transplantation*, 2002, 73: 287—292.
- 15 Ke B, Buelow R, Shen XD, et al. Heme oxygenase-1 gene transfer prevents CD95/Fas ligand-mediated apoptosis and improves liver allograft survival via carbon monoxide signaling pathway. *Hum Gene Ther*, 2002, 13: 1189—1199.
- 16 Brouard S, Berberat PO, Tobiasch E, et al. Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide requires the activation of transcription factor NF-kappa B to protect endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-mediated apoptosis. *J Biol Chem*, 2002, 277: 17950—17961.
- 17 Duckers HJ, Boehm M, True AL, et al. Heme oxygenase-1 protects against vascular constriction and proliferation. *Nat Med*, 2001, 7: 693—698.
- 18 Minamino T, Christou H, Hsieh CM, et al. Targeted expression of heme oxygenase-1 prevents the pulmonary inflammatory and vascular responses to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 8798—8803.
- 19 Vachharajani TJ, Work J, Issekutz AG, et al. Heme oxygenase modulates selectin expression in different regional vascular beds. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 278: H1613—1617.
- 20 Lee TS, Chau LY. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-10 in mice. *Nat Med*, 2002, 8: 240—246.
- 21 Kato H, Amersi F, Buelow R, et al. Heme oxygenase-1 overexpression protects rat livers from ischemia/reperfusion injury with extended cold preservation. *Am J Transplant*, 2001, 1: 121—128.
- 22 Grassy G, Calks B, Yasri A, et al. Computer-assisted rational design of immunosuppressive compounds. *Nat Biotechnol*, 1998, 16: 748—752.

(收稿日期: 2004-03-09)

·病例报告·

旷置残段食管修补食管—气管瘘 1 例

李仕全 王志 梁风 崔忠厚

病人 男, 51 岁。2000 年 4 月酒后呕吐致食管破裂, 13 d 后行第一次食管支架放置术, 术后不久出现吞咽困难, 仅靠流食、静脉补液维持生存; 5 个月后又行第二次支架放置术, 并与第 1 个支架重叠; 不久, 又出现吞咽困难、咳嗽, 咳大量白色泡沫痰及黄痰, 双肺反复感染, 体重由 70 kg 减至 45 kg。

2001 年 3 月下旬来我院求治。胸部 CT 示气管隆凸水平食管—气管瘘, 气管与食管之间仅靠支架隔离。于同年 4 月在全麻下左侧开胸行食管支架取出, 食管中下段切除, 食管胃主动脉弓上吻合术。术中将 2 支架取出后, 从食管腔即可看到气管内插管, 此时, 病人左肺萎陷, 血氧饱和度迅速下降, 麻醉师速将气管插管外拔, 用纱布堵住食管腔, 漏气停止, 肺又膨胀, 病人血氧饱和度上升, 迅速游离食管并在主动

脉弓下横断, 缝合食管残端, 再将食管从主动脉弓上水平切断, 缝合食管残端, 利用主动脉弓后方这段旷置残段食管成功修补气管瘘。

术后气管切开 11 d 3 周后病人治愈出院。随访 2 年, 病人体重增加 23 kg, 工作及生活正常。

讨论 该病人食管破裂没有手术治疗, 而选择食管腔内安放支架。在第一次放支架不理想的情况下又放了第 2 个支架, 且与第 1 个支架重叠。由于气管、食管互为毗邻, 支架处感染、腐蚀和磨损, 致食管—气管瘘迅速形成, 双肺反复感染; 再由于食管腔内黏膜受损, 肉芽增生, 管腔狭窄, 管壁僵硬, 致使病人吞咽困难, 病人只能靠流食, 经静脉补气管液维持生存。由于瘘口所处位置手术难度大, 故我们采用旷置的残段食管修补气管瘘口, 手术操作简单, 效果好, 成功率高。

作者单位: 100039 北京, 武警北京总队第三医院外三科(李仕全、王志、梁风); 解放军总医院胸外科(崔忠厚)

(收稿日期: 2004-09-08)

编者按 又是 1 例自发性食管破裂放置食管支架造成的医学难题, 本例最终治疗成功, 实乃万幸。毋庸置疑, 支架技术使许多管腔狭窄性疾病得到了有效的治疗, 如冠心病。但是随着经验的积累, 支架放置术的适应证在不断精确。近年来, 许多专家都处理过食管或气管支架造成的临床难题, 尤其是良性食管疾病, 因为不正确地安放了支架而引起灾难性后果, 处理起来相当困难, 严重者形成食管气管瘘, 最终消耗死亡。教训已经足够多了。这里再次提请有能力安放食管气管支架者注意: 食管支架的主要适应证是恶性疾病, 治疗的目的是姑息性、减症治疗。对于良性食管疾病, 切忌滥用!