

腺苷及线粒体功能损伤与肺动脉高压

张 协 王良兴

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 的研究已有 100 多年历史,是引起右心功能衰竭和死亡的重要原因。目前已知其病理发展中一重要环节为慢性缺氧导致的肺动脉平滑肌细胞增殖异常。近年来研究表明,腺苷可作用于其受体调节血管平滑肌活性,而线粒体功能损伤与细胞凋亡和细胞低氧感受密切相关,提示两者在 PAH 发生发展中可能存在重要的调节作用。本综述旨在描述腺苷及腺苷受体与线粒体功能损伤之间的关系,及其两者在低氧肺动脉高压发生发展中的可能的分子作用机制。

一、肺动脉高压发病机制

PAH 主要病理机制是血管收缩、血管重构及原位血栓形成,3 种因素的综合作用使肺血管阻力进行性升高,最终引起右心功能衰竭和死亡。PAH 发生发展过程中,重要病理结构改变包括远端肺细小动脉异常扩张、动脉平滑肌细胞增殖异常、胶原纤维增生、内皮细胞功能异常^[1]。正常情况下,肺成纤维细胞、动脉平滑肌细胞和血管内皮细胞的增殖和凋亡之间保持相对平衡,因此肺动脉壁的厚度和组织构成也维持在理想水平。一旦这种平衡因外在因素如低氧、炎症等而打破,将出现肺动脉平滑肌增殖增多,凋亡减少,从而导致肺动脉壁增厚、管腔狭窄甚至消失,这也是 PAH 中最主要的一种病理改变——肺血管重构。目前尚没有理想的药物可以完全有效治疗 PAH,未来任何有效的治疗方法应该着眼于通过抑制肺动脉平滑肌细胞的增殖和促进其凋亡来预防和(或)逆转血管的重塑,可能的话,预防细胞水平的血管收缩,上述三者的联合应用可能起到协同作用,最终改善 PAH 的预后。

二、腺苷及其受体与肺动脉高压

1. 腺苷及其受体分布:腺苷全称腺嘌呤核苷,由腺嘌呤和戊糖结合而成,是体内能量代谢产物之一,

可在全身各组织产生,但血管内皮产生腺苷较多。腺苷产生后通过与受体结合发挥不同的生物学效应。腺苷的半衰期极短,1 至数秒。体内的大部分腺苷又通过磷酸化生成 AMP,完成腺苷的再循环,部分腺苷则经脱氨酶作用下最后变成尿酸,是腺苷的最终代谢产物。腺苷受体属于 G 蛋白偶联型受体(G-protein coupled receptor, GPCR):为跨膜的糖蛋白,由细胞外区、跨膜区和细胞内区 3 个功能域组成,绝大多数具有跨膜信号转导作用,在代谢和组织器官的功能调控,特别是心血管和神经系统的功能调控中发挥重要作用,又称为代谢型受体^[2]。根据其受体结合腺苷的能力以及对腺苷环化酶的活性调控作用的不同,可分成 4 个亚型: A₁R、A_{2A}R、A_{2B}R 和 A₃R,目前它们均已被克隆出来。其中腺苷 A₂ 受体可分为高亲和力的 A_{2A}R 和低亲和力的 A_{2B}R^[3]。A_{2A}R 主要分布于脑组织中的多巴胺富集区,其次是肾乳头、血管、内皮细胞、血小板及多形核白细胞膜。

2. 腺苷与肺动脉高压:1929 年 Drury 等^[4]发现腺苷具有调节心率和外周血管弹性,影响肾功能等作用,从而开启了腺苷及其受体在心血管、肺循环、神经内分泌系统的研究。随着研究深入, Fredholm 等^[5, 6]发现 A_{2A}R 在中枢神经系统的纹状体、嗅结节呈高度表达,在外周心脏、肺部、血管上呈中度表达, A_{2A}R 活化后在神经系统可产生双向作用,而在外周器官则主要通过抗炎和扩张血管等作用来降低组织损伤,从而对机体产生保护作用。目前低氧所致慢性肺动脉高压的机制仍不明确,腺苷及其受体在 PAH 的发生发展过程中起何种作用也尚不清楚。但多个研究显示,腺苷能够有效地舒张血管,从而降低肺血管阻力,缓解肺动脉高压。同时腺苷对肺循环具有相对高选择性,一方面肺循环中腺苷的血药浓度远超过体循环中水平,另一方面腺苷受体在肺循环表达也较体循环多^[7, 8]。由于肺循环能够大量摄取腺苷,且腺苷受体表达较多,由此设想腺苷对 PAH 有无影响,其是否能够缓解肺动脉高压。事实上,在低氧致肺动脉高压动物模型研究中发现,经颈外静脉插管内恒速注入不

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2101208)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院呼吸内科

通讯作者:王良兴,教授,硕士生导师,主任医师,电子信箱:wzyxy-wlx@163.com

同浓度的腺苷溶液 $25\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 组, $50\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 组, $100\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})$ 组用药后平均肺动脉压 (mean pulmonary arterial pressure, mPAP) 分别降低 $(18.5 \pm 9.9)\%$, $(27.1 \pm 4.5)\%$, $(37.2 \pm 7.2)\%$, 明显低于用药前 (P 均 < 0.01), 且前两组用药后平均肺动脉压与体循环压之比明显低于用药前 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)^[9]。Fullerton 等^[10]对 10 例心脏术后并发肺动脉高压病人 (年龄为 62 ± 6 岁) 经中心静脉输注腺苷 $[50\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{min})]$ 后发现, 输注腺苷 15min 后, 肺血管阻力 (pulmonary vascular resistance, PVR) 从 $(560 \pm 30) \text{ dynes} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$ 降至 $(260 \pm 30) \text{ dynes} \cdot \text{s} \cdot \text{cm}^{-5}$, 平均肺动脉压 (mean pulmonary arterial pressure, mPAP) 从 $4.80 \pm 0.13 \text{ kPa}$ 降至 $3.73 \pm 0.27 \text{ kPa}$, 肺血管阻力比 (pulmonary vascular resistance ratio, PVRR) 从 0.44 ± 0.03 降至 0.32 ± 0.03 (P 均 < 0.05), 用药期间监测全身血管阻力 (systemic vascular resistance, SVR) 虽下降, 但肺体血管阻力之比仍有明显降低, 且平均动脉压无显著变化。因此, 腺苷能够扩大血管并优先作用于肺血管床, 降低肺血管压力, 缓解肺动脉高压, 这一特性奠定了腺苷及其受体用于治疗 PAH 奠定了基础。

3. A_{2A} 腺苷受体与肺动脉高压: 外源性腺苷可引起肺血管舒张, 但其确切机制尚未明确。多数研究认为腺苷可能通过结合肺血管平滑肌上特异性 A_{2A} R 兴奋腺苷酸环化酶, 使平滑肌细胞内 cAMP 浓度引起肺血管松弛^[11]。PAH 病程发生发展与肺细小动脉平滑肌细胞增殖密切相关, 而在肺实质的免疫组化研究显示 A_{2A} R 在肺实质主要分布于细支气管、肺泡上皮细胞、血管壁和细支气管上平滑肌细胞、肺动脉的内皮细胞上, 说明 A_{2A} R 可能参与调节 PAH 的形成^[12]。Xu 等^[13]实验也进一步证明: A_{2A} R 基因敲除小鼠在常氧及低氧环境下较野生型小鼠更易导致 PAH 的产生, 并且通过病理组织学观察到肺动脉平滑肌细胞的增殖以及胶原纤维的沉积。此外, 离体实验发现低氧条件下大鼠细肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary arterial smooth muscle cells, PSMCs) A_{2A} R 表达增加, 上调 A_{2A} R 可抑制低氧 PSMCs 增殖的现象^[14]。提示缺氧引起的腺苷 A_{2A} R 表达异常可能是引起肺血管结构重建的重要机制之一。以上一系列的研究均证实了腺苷 A_{2A} R 能够安全有效地抑制低氧下的肺动脉平滑肌的增殖, 从而延缓 PAH 的发展, 在治疗 PAH 方面有很大的前景。此外, 腺苷还可作用于 A_{2B} R 来抑制主动脉血管平滑肌细胞蛋白合成, 从而抑制平滑

肌细胞的肥大。而 A_{2B} R 是否也能够抑制肺动脉平滑肌细胞的增殖尚未得到证实。

三、线粒体功能损伤与肺动脉高压

1. 线粒体及其膜电位与细胞凋亡: 近年来研究发现, 线粒体与细胞凋亡、细胞低氧感受密切相关, 并在肺动脉高压发病机制中起到非常重要的作用。细胞凋亡的早期就会出现线粒体内膜通透性增大, 线粒体跨膜电位 (mitochondrial membrane potential, $\Delta\psi\text{m}$) 明显下降。如在毒物 (如鱼藤酮、原卟啉 IX、百草枯等) 诱导的肝细胞凋亡、兴奋性递质 (谷氨酸) 诱导的神经元凋亡, 必须生长因子的缺乏引起的相应细胞凋亡, 糖皮质激素诱导的淋巴细胞凋亡等, 皆证实了早期的线粒体 $\Delta\psi\text{m}$ 的明显下降。 $\Delta\psi\text{m}$ 的下降可能主要是由于线粒体通透性转换孔 (permeability transition pore, PTP) 的改变, PTP 的改变使线粒体的能量代谢障碍, 释放氧自由基及蛋白酶和核酸内切酶的激活剂等, 进而诱发凋亡。体内、外实验证明, 降低线粒体通透性可以防止细胞凋亡, 用 Bcl-2 可以阻止细胞凋亡, 在于它能升高线粒体的跨膜电位和阻止线粒体通透性改变。目前认为, 线粒体膜功能和结构上的完整性被破坏引起细胞凋亡的可能机制是: 线粒体内、外膜之间的 PTP 具有调节线粒体膜通透性的作用。正常情况下, 绝大多数 PTP 处于关闭状态。当线粒体 $\Delta\psi\text{m}$ 在各种凋亡诱导因素作用下降低时 PTP 开放, 导致线粒体膜通透性增大, 使细胞凋亡的启动因子如: 细胞色素 C (Cyt C)、凋亡蛋白酶激活因子 (Apaf) 和凋亡诱导因子 (AIF) 等从线粒体内释放出来。Cyt C 是一种水溶性蛋白质, 正常情况下 Cyt C 主要位于线粒体膜间隙, 当线粒体 $\Delta\psi\text{m}$ 降低时, Cyt C 释放到细胞质中, 进一步活化 caspase-9, 引发 caspase 级联反应, 导致细胞凋亡^[15-17]。目前认为, Cyt C 自线粒体向胞质的释放是线粒体凋亡途径的关键环节, 而 caspase-9 是线粒体凋亡途径中的关键蛋白酶。caspase-9 的激活引起一系列细胞因子蛋白酶的激活 (如: caspase-3、-6、-7), 而 caspase-9 的激活要依赖于 Cyt C^[16, 18]。Cyt C 与 Apaf 相互作用可激活 caspase-9, 而 AIF 是一种核基因组编码的, 分子质量为 50kDa 的膜间蛋白, 可快速激活核酸内切酶, 并增强 caspase-3 的水解活性。Bcl-2 具有恢复 $\Delta\psi\text{m}$ 和调制 PTP 功能的作用, 因而可阻止上述凋亡启动因子从线粒体向外释放, 切断了细胞凋亡级联式反应中的关键性环节, 所以具有很强的抗细胞凋亡的作用。如 Mark 等在 6 例原发性肺动脉高压肺组织行

基因芯片研究,发现在肺动脉高压患者抗凋亡 Bcl-2 基因表达上调,提示肺动脉高压形成过程中凋亡是受抑制的。

2. 线粒体功能损伤与肺动脉高压: Moudgil 等^[19]综合分析大量文献及研究表明:线粒体是肺血管氧感受器,线粒体作为氧感受器是如何感知及调节血氧浓度变化,目前一致认识,是通过位于线粒体膜上呼吸链(ETC)起作用的。可能的机制为:通过调节体内活性氧(ROS)产生从而对肺泡氧分压变化起应答作用。而 ROS 在肺血管作为一种调节介质,其通过改变离子通道关键部位巯基基团电子转递方向等一系列氧化还原反应,从而改变一种或多种相应功能蛋白表达(如钾离子通道、钙离子通道),起到调节离子通道功能的作用,最终对肺泡氧分压的变化起调节作用。进一步的研究发现在 PAH 血管重构,不同种属低氧模型中,肺动脉平滑肌细胞凋亡与增殖异常,其中线粒体途径凋亡通路明显抑制,提示线粒体凋亡途径异常导致 PAMSCs 数量增加可能是肺血管重构的另一重要机制^[20]。进一步研究发现在离体 PAMCs 低氧模型中,缺氧可以引起线粒体 ATP 敏感型钾离子通道(mitochondrial ATP-sensitive potassium channel, MitoK_{ATP})的开放以及线粒体膜电位去极化,进而抑制了细胞色素 C 从细胞线粒体释放到细胞质,抑制线粒体凋亡途径,从而参与并影响了肺动脉高压的发生发展^[18]。以上研究提示低氧情况下 MitoK_{ATP} 的改变促进肺动脉高压的形成。

四、腺苷受体与线粒体功能的关系

目前,腺苷受体与线粒体功能的相关性在心肌缺血、再灌注损伤、脑神经保护方面,国内外都已有相关的研究报道,如 Cohen 等指出在心肌缺血再灌注损伤过程中,KATP 通道的开放和腺苷受体激活对心肌起保护作用。在离体心肌细胞中 A₁R、A_{2A}R、A₃R 激活可预防血管收缩剂所致的心肌肥大,而且特异性 mitoK_{ATP} 拮抗剂 5-羟基癸酸盐(5-hydroxydecanoic acid, 5-HD)可减弱 A_{2A}R、A₃R 激活拮抗心肌肥大作用;且 A_{2A}R、A₃R 激动剂能降低经血管收缩剂肾上腺素处理的心肌的线粒体膜电位,两者均能抑制线粒体内钙离子水平升高。2010 年,国外一家生物治疗公司(Hybernation therapeutics Ltd8)申请一项有关治疗组织缺血缺氧性损伤方面专利,治疗策略之一:联合应用钾离子通道开放剂、腺苷受体激动剂和抗心律失常药物。同时相关文献报道进一步报道在各种平滑肌,如:猪冠状动脉、气管平滑肌、肺血管平滑肌通过调

节 ATP 敏感性钾离子通道活性而中止腺苷受体激动后的生理作用。而两者相关性在 PAH 方面国内外少有涉及,仅 Xu 等综述指出大量实验数据表明腺苷及其类似物的对外周器官的保护作用,具体机制可能涉及腺苷受体激活、抗中性粒细胞作用、减弱氧自由基产生、增加体内一氧化氮释放、预防线粒体损伤、抗凋亡作用等,但具体信号传导通路及上述各种因素相互作用仍未明确。

综上所述,腺苷 A_{2A}R 参与了低氧 PAH 的形成过程,并能够通过抑制肺动脉平滑肌增殖、选择性扩张肺血管,从而延缓 PAH 发展;线粒体作为氧感受器,通过 ROS 感受肺泡内氧分压,使低氧状态下线粒体凋亡途径受抑制,也促进了 PAH 的发展。而腺苷 A_{2A}R 也能够通过 ROS 通路调节线粒体的通透性,发挥其生理作用,因此,腺苷 A_{2A}R 与线粒体功能受损可能共同参与了 PAH 中肺动脉平滑肌的增殖,可以此为靶向寻找临床治疗 PAH 的新的治疗途径。

参考文献

- Hernandez RH, Martinez GH, Casal J, et al. Pulmonary arterial hypertension: from pathophysiology to management[J]. Bol Asoc Med P R, 2011, 103(1): 34-40
- Klaasse EC, Ijzerman AP, de Grip WJ, et al. Internalization and desensitization of adenosine receptors[J]. Purinergic Signal, 2008, 4(1): 21-37
- Chen JF, Pedata F. Modulation of ischemic brain injury and neuroinflammation by adenosine A_{2A} receptors[J]. Curr Pharm Des, 2008, 14(15): 1490-1499
- Drury AN, Szent GA. The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart[J]. J Physiol, 1929, 68(3): 213-237
- Fredholm BB, AP IJ, Jacobson KA, et al. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors[J]. Pharmacol Rev, 2001, 53(4): 527-552
- Yaar R, Jones MR, Chen JF, et al. Animal models for the study of adenosine receptor function[J]. J Cell Physiol, 2005, 202(1): 9-20
- Fullerton DA, Jagers J, Jones SD, et al. Adenosine for refractory pulmonary hypertension[J]. Ann Thorac Surg, 1996, 62(3): 874-877
- Saadjan AY, Paganelli F, Gaubert ML, et al. Adenosine plasma concentration in pulmonary hypertension[J]. Cardiovasc Res, 1999, 43(1): 228-236
- 陈彦凡, 陈少贤, 蒋仲荪, 等. 腺苷对慢性低氧高二氧化碳大鼠肺动脉高压的影响[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(2): 184-186
- Fullerton DA, Jones SD, Grover FL, et al. Adenosine effectively controls pulmonary hypertension after cardiac operations[J]. Ann Thorac Surg, 1996, 61(4): 1118-1123
- Shryock JC, Belardinelli L. Adenosine and adenosine receptors in the cardiovascular system: biochemistry, physiology, and pharmacology[J]. Am J Cardiol, 1997, 79(12A): 2-10 (下转第 35 页)

94 和 9/46(18.1% 和 19.6%)。夏咸军等^[9]报道了 34 例腹部手术的 HIV 感染者,术后总的血流感染发生率 55.9%,其中 CD4⁺T 淋巴细胞 $\leq 200 \times 10^6/L$ 和 CD4⁺T 淋巴细胞 $> 200 \times 10^6/L$ 者血流感染发生率分别为 84.2% 和 20% ($P < 0.05$)。本研究显示血流感染组的 CD4⁺T 淋巴细胞、CD3⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞均比非血流感染组低,但是差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。并且对 126 例 CD4⁺T 淋巴细胞 $\leq 200 \times 10^6/L$ 的患者发生血流感染 25 例(19.8%),与 18 例 CD4⁺T 淋巴细胞 $> 200 \times 10^6/L$ 的患者发生血流感染 3 例(16.7%)进行比较,结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。Kiertiburanakul 等^[5]报道艾滋病引起的血流感染病死率为 21%,局部感染和休克等并发症是高病死率的预测因子^[5]。本研究显示血流感染组的病死率 32.1%,无血流感染组 12.1%,两组比较为差异有统计学意义 ($\chi^2 = 6.772, P = 0.009$)。提示血流感染对艾滋病的病死率具有很大的影响。

血流感染是临床上重症感染性疾病之一,由于近年来引起血流感染的病原菌对常用抗感染药物的耐药性增加,使血流感染的治疗面临严峻挑战。积极治疗原发疾病,加强支持治疗,积极改善贫血状态,可能减少血流感染的发生。同时应去除可能的诱发因素,注意无菌操作,合理使用抗菌药物是减少血流感染发

生率,提高治愈率的关键。

参考文献

- 1 中华医学会感染病分会艾滋病学组. 艾滋病诊疗指南(2011 版)[J]. 中华传染病杂志,2011,29(10):629-640
- 2 陈灏珠,林果为. 实用内科学[M]. 13 版,北京:人民卫生出版社,2009:641-649
- 3 Varma JK, McCarthy KD, Tasaneeyapan T, *et al.* Bloodstream infections among HIV-infected outpatients, Southeast Asia[J]. Emerg Infect Dis,2010,16(10):1569-1575
- 4 许超宇,张宇锋,李仕雄,等. HIV/AIDS 患者 152 例 CD4⁺ 细胞计数与机会性感染相关分析[J]. 实用医学杂志,2011,27(21):3909-3911
- 5 Kiertiburanakul S, Watcharatipagorn S, Chongtrakool P, *et al.* Epidemiology of bloodstream infections and predictive factors of mortality among HIV-infected adult patients in Thailand in the era of highly active antiretroviral therapy[J]. Jpn J Infect Dis,2012,65(1):28-32
- 6 Adeyemi AI, Sulaiman AA, Solomon BB, *et al.* Bacterial bloodstream infections in HIV-infected adults attending a Lagos teaching hospital[J]. J Health Popul Nutr,2010,28(4):318-326
- 7 贾冀川,刘钉宾. 艾滋病患者两次并发感染猪霍乱菌一例[J]. 中华检验医学杂志,2004,27(10):659-660
- 8 Durden FM, Elewski B. Fungal infections in HIV-infected patients[J]. Semin Cutan Med Surg,1997,16(3):200-212
- 9 夏咸军,刘宝池. 免疫学指标对人免疫缺陷病毒感染患者腹部手术后脓毒症发生的预测作用[J]. 中华胃肠外科杂志,2011,14(7):500-502

(收稿:2012-05-09)

(修回:2012-06-04)

(上接第 13 页)

- 12 Varani K, Caramori G, Vincenzi F, *et al.* Alteration of adenosine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med,2006,173(4):398-406
- 13 Xu MH, Gong YS, Su MS, *et al.* Absence of the adenosine A2A receptor confers pulmonary arterial hypertension and increased pulmonary vascular remodeling in mice[J]. J Vasc Res,2011,48(2):171-183
- 14 钱国清,王良兴,陈婵,等. 大鼠细肺动脉平滑肌细胞原代培养和鉴定方法的研究[J]. 中国应用生理学杂志,2010,26(1):125-128
- 15 Nuytten N, Hakimhashemi M, Ysenbaert T, *et al.* PEGylated lipids impede the lateral diffusion of adsorbed proteins at the surface of (magneto)liposomes[J]. Colloids Surf B Biointerfaces,2010,80(2):227-231
- 16 Srivastava AK, Ali W, Singh R, *et al.* Mancozeb-induced genotoxicity

and apoptosis in cultured human lymphocytes[J]. Life Sci,2012, [Epub ahead of print]

- 17 Allan LA, Clarke PR. Apoptosis and autophagy. Regulation of caspase-9 by phosphorylation[J]. FEBS J,2009,276(21):6063-6073
- 18 胡红玲,汪涛,张珍祥,等. Diazoxide 对缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞内氧自由基的变化及细胞增殖的作用[J]. 中国病理生理杂志,2007,23(10):2002-2006
- 19 Moudgil R, Michelakis ED, Archer SL. Hypoxic pulmonary vasoconstriction[J]. J Appl Physiol,2005,98(1):390-403
- 20 丁城,王良兴,陈少贤,等. 葛根素对低 O₂ 高 CO₂ 肺动脉高压大鼠肺动脉平滑肌细胞线粒体途径凋亡的影响[J]. 温州医学院学报,2008,38(4):295-299

(收稿:2012-05-14)

(修回:2012-05-29)