

血红素氧合酶 - 1 与急性肾损伤研究新进展

廉志远 赵鸣雁

摘要 血红素氧合酶 - 1 (heme oxygenase - 1, HO - 1) 具有催化血红素生成胆绿素, 释放铁离子, 生成一氧化碳的活性。HO - 1 是目前公认的对各种不同组织的创伤均可起到保护作用的保护剂, 而这一保护作用首先是在急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 中被发现的。最新研究包括: HO - 1 在小鼠急性肾损伤中的调节和功能; HO - 1 在急性肾损伤中与年龄的关系; HO - 1 和球管反馈以及残余肾对急性肾损伤的作用; HO - 1 和脓毒症相关的血栓性微血管病变; 血红素氧合酶 - 1 对脓毒症大鼠肾脏功能及内皮素 - 1 表达的影响; 血红素氧合酶与心肾综合征导致的急性肾衰竭; HO - 1 和细胞保护介质、细胞因子的关系; 血红素氧合酶 - 1 作为急性肾损伤的生物学标志物。本综述从以上几个方面归纳总结 HO - 1 与急性肾损伤领域的最新研究及发现。

关键词 急性肾损伤 细胞保护 血红素氧合酶 - 1

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.044

血红素蛋白在细胞内和细胞外中均存在, 并且具有影响细胞稳定性的作用。然而, 这些蛋白是不稳定的, 尤其是在缺血、肾损伤以及炎症等情况下引起内环境紊乱时。血红蛋白失去自身稳定性之后减弱了血红素与珠蛋白之间的结合, 甚至引起血红素的游离、释放。由于游离的血红素具有促氧化、促炎、促凋亡的作用, 因此从血红蛋白中分离出的血红素会进一步影响细胞的稳定性^[1,2]。由此可知, 血红素在机体内的水平应控制在一个合适的范围, 而对这一合适范围的调控是由血红素氧合酶完成的。

HO - 1 通过化学反应将血红素转化为胆绿素、一氧化碳和铁离子; 低浓度的胆绿素类物质和二氧化碳具有细胞保护作用, 能够对信号通路产生影响, 而铁离子能够将血红素氧合酶与铁蛋白连接, 并且参与维持机体的铁动态稳定。HO - 1 和 HO - 2 分别是可诱导型和结构型的亚体, 均具有血红素氧合酶的活性。

HO - 1 的细胞保护作用首先是在肾脏中被发现的, 特别是在血红素蛋白诱导的 AKI 模型中。随后发现, HO - 1 在顺 - 二氯二氨络铂、缺血再灌注损伤、脂多糖、尿路梗阻以及肾移植术后引起的急性肾损伤中也起到肾脏保护作用。在 AKI 中, 当 HO - 1 被广泛诱导表达时主要通过内源性毒素的清除 (血

红素)、细胞保护分子的产生 (胆色素、一氧化碳和铁蛋白)、参与维护铁稳态 3 个方面对肾脏起到保护作用。

在 AKI 中诱导产生 HO - 1 有两方面的因素。第 1 个因素是 HO - 1 基因是一种极易被诱导表达的基因, 对多种刺激和创伤都会诱导该基因的表达, 包括活性氧和活性氮物质、细胞因子、缺血、缺氧、辐射、重金属、各种代谢产物、血流动力学改变和治疗药物等。现已证实一些转录因子与 HO - 1 基因的诱导之间存在密切的联系, 包括 Nrf2、核转录因子 - κ B 和 AP - 1。通过大量的调查研究发现, 在 AKI 中所涉及的 HO - 1 特异性信号通路及转录可能与 AKI 的类型、AKI 的严重程度和 AKI 进展过程中特定的时间段有关。而且, 在不同的物种间 HO - 1 基因的转录控制也不完全相同。第 2 个因素是 HO - 1 基因诱导表达的产物过多, 会造成细胞损伤。HO - 1 诱导表达后, 能产生一些产物, 这些产物在过多的情况下能对细胞造成毒性。例如, HO - 1 产物之一——一氧化碳能在较高浓度下与血红素蛋白中血红素辅基的紧密结合使血红素蛋白功能障碍, 引起机体中毒; 在 HO - 1 的作用下血红素释放铁的量增加, 这些过量的铁如果得不到适当隔离或运输就会导致机体发生氧化应激反应。因此, 在 AKI 中, 诱导表达的 HO - 1 能够减轻肾脏损伤, 也利于肾损伤恢复, 这一保护作用值得进一步研究。

一、人 HO - 1 在小鼠急性肾损伤中的调节和功能
有研究表明, 在 HO - 1^{-/-} 小鼠体内植入含有人工染色体 (BAC) 的基因片段, 该小鼠能够产生并表

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81171785)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一临床教学医院重症医学科

通讯作者: 赵鸣雁, 教授, 博士生导师, 电子邮箱: mingyan1970@126.com

达出人类 HO-1 mRNA 和蛋白^[3]。人 HO-1 基因重建于先天 HO-1 基因缺乏的小鼠体内,该基因的表达能够减弱由 HO-1 缺失引起的毒性反应。这些研究表明,人 HO-1 的细胞保护特性和作用能从功能上替代小鼠所缺失的 HO-1 基因。虽然小鼠和人类基因的调控在应激反应、基因反应元件和内含子等方面存在不同,但在一定程度上是可以使用这种小鼠来研究人 HO-1 基因调控的。人 HO-1 基因转录的关键要素,包括染色质环对调控序列的影响、特异性因子(Sp1)在染色质和转录基因中的作用^[4]。由此可知,这种转基因鼠也能用于研究人 HO-1 在 AKI 中的调控意义及其转录研究。

二、HO-1 在急性肾损伤中与年龄的关系

随着年龄的增长,患 AKI 的风险也随之增长。在缺血再灌注的条件下,老年小鼠比年轻小鼠表现出更严重的肾损伤以及较少的 HO-1 表达,尤其在肾的髓质。注射血红素精氨酸使老龄小鼠肾脏皮质小管和髓质间质巨噬细胞 HO-1 表达升高,同时也降低 AKI 对年龄依赖性的敏感度。血红素精氨酸也可以在体外直接诱导巨噬细胞表达 HO-1。髓质间质细胞缺血再灌注后,耗尽巨噬细胞的老年小鼠没有表现出 HO-1 的表达,给其注射精氨酸血红素后也不会起到保护作用。因此,减弱 HO-1 的诱导能增加缺血再灌注损伤对年龄的敏感度,血红素精氨酸通过诱导肾脏 HO-1 表达减弱这种敏感度,特别是在髓质间质的巨噬细胞^[5]。由腺病毒引起的巨噬细胞表达 HO-1 的上调也能够防止缺血性急性肾损伤。这样的巨噬细胞在转移后,定位在缺血的肾脏部位而不是健康部位,从而降低肾功能不全,减少血小板血栓形成^[6]。巨噬细胞 HO-1 的上调提供了一个减少老年人和其他易感人群缺血性急性肾损伤风险的策略。

三、血红素氧合酶、球管反馈以及残余肾对急性肾损伤的作用

HO-1 和 HO-2 亚型均存在于正常肾脏组织的致密斑内,并且致密斑能够结合血红素氧合酶抑制肾小管-肾小球反馈(TGF)。这种抑制作用能防止相关的入球小动脉血管收缩,同时增加钠盐向致密斑传递,从而稳定肾小球滤过率(GFR)。血红素加氧酶对 TGF 这种抑制作用是其产物的作用,一氧化碳通过可溶性鸟苷酸环化酶抑制 TGF,而胆绿素通过清除超氧阴离子抑制 TGF- β 1,后者增加了 TGF^[7]。血红素氧合酶对 TGF 的抑制作用可能原因是在急性肾损伤中近端钠盐的重吸收受到影响使得向远端输送的钠

增加,在这种情况下一个完整的血红素氧合酶系统会中断入球小动脉血管收缩,从而维持血流量,肾小球滤过率和钠排泄。目前,已承认血红素氧合酶对 TGF 有一定的抑制作用^[7,8]。

四、HO-1 和脓毒症相关的血栓性微血管病变

HO-1 的缺乏促进受损血管的血栓形成,并且血红素氧合酶产生的一氧化碳具有抗凝作用。最近研究表明,在盲肠结扎导致脓毒症的动物模型中,HO-1 对血栓性微血管病引起急性肾损伤起到保护作用。脓毒症模型的血液为促凝状态,血浆活化蛋白 C (APC)水平减少,同时血栓调节蛋白(TM)和血管内皮细胞蛋白 C 受体(EPCR)也是减少的。用血红素预处理实验模型使得肾小球 HO-1 表达增加,肾 TM 和 EPCR 表达增加,同时减轻肾功能障碍、减轻肾小球 TMA、降低了凝血状态。在该模型中氯化血红素也增加血浆中 APC。血红素所呈现的这些作用再加上血红素酶被抑制时所表现出的反作用,都支持了 HO-1 在脓毒症 TMA 和 AKI 中所起到的保护作用^[9]。

五、血红素氧合酶-1 对脓毒症大鼠肾脏功能及内皮素-1 表达的影响

肾脏功能障碍是脓毒症并发症中最常见,能导致患者病情进一步加重甚至临床死亡。内皮素-1 (ET-1)是目前所知的具有较强血管收缩作用的肽。脓毒症时 ET-1 对肾功能紊乱的发生也起着重要作用,而且 HO-1 的表达可有效拮抗 ET-1 诱导的肾毒性。本实验外源性给予氯化血红素后,脓毒症大鼠体内 HO/CO 活性增强,肾脏及血浆 ET-1 表达下调,肾脏病理改变减轻,肌酐下降,肾脏功能得到明显改善,而血红素氧合酶抑制剂则起到了相反的作用,提示 ET-1 表达降低与 HO/CO 系统的调节作用密切相关^[10]。

六、血红素氧合酶和心肾综合征导致的急性肾衰竭

在心肌梗死诱导的心肾综合征的小鼠模型中,当 HO-1 在肾脏的表达上调时肾功能障碍和组织损伤减轻;当血红素氧合酶的活性受到抑制时这种保护作用减弱。单纯的心肾综合征动物模型要比使用 T 淋巴细胞受到抑制的小鼠建造的心肾综合征的动物模型 AKI 的程度轻,并且后者 HO-1 的保护作用是增强的^[11]。在心功能障碍出现后 HO-1 的诱导保护了肾脏,尤其是当 T 细胞被抑制时。

七、血红素加氧酶-1 和细胞保护介质

HO-1 的诱导增加使得铁蛋白合成增加,从而

为血红素释放的铁提供存储空间。最近培养的一种新的突变小鼠,其中近端肾小管缺乏铁蛋白 H 链的表达,这条链不仅束缚铁也能中断其氧化还原反应。即便缺乏铁蛋白 H 链的小鼠能够表达较高水平的 HO-1 也不能抑制血红素蛋白和顺铂诱导 AKI^[12]。此外,研究表明肾脏表达铁蛋白(主要的铁结合蛋白)引起肾铁转运蛋白的表达(主要的铁转运蛋白)。因此,在 AKI 中铁蛋白可以不依赖 HO-1 发挥细胞保护作用,并且在 AKI 中铁蛋白自身可以招募其他的蛋白质如膜铁转运蛋白维护铁稳态。一氧化碳在低剂量下具有细胞保护作用^[13]。在猪体外循环(CPB)模型的研究中表明,于 CPB 前吸入的一氧化碳能够改善肾功能,减轻组织损伤并激活热休克蛋白(HSP)-70^[14]。药物抑制热休克反应后能够制减弱一氧化碳的保护作用,从而表明 HSP-70 作用及热休克反应参与调节了一氧化碳细胞保护作用。

八、血红素氧合酶-1 作为急性肾损伤的生物学标志物

在急性肾损伤模型中,缺血再灌注、肾毒素、梗阻均能诱导肾脏 HO-1 mRNA 和蛋白的表达,并且在 4h 内血浆及尿液中可以检测到 HO-1 蛋白。血浆及尿液中的 HO-1 水平可以反映出肾脏中诱导表达的 HO-1 mRNA 的水平。当铁诱导肾小管上皮细胞表达 HO-1 时细胞外存在的 HO-1 也能反映细胞 HO-1 的表达。AKI 患者血浆及尿液中 HO-1 水平增加,这一发现在患 AKI 以外疾病的患者或者在 CKD 患者中不存在。总的来说,这些结果表明血浆和尿 HO-1 水平可作为人类 AKI 生物学标志物^[15]。

九、HO-1 与细胞因子

肝细胞生长因子(HGF)具有对受损肾脏的保护作用。在 LPS 处理的小鼠研究中,重组人肝细胞生长因子(rhHGF)能够降低 AKI 程度,肺损伤以及病死率,同时促进 c-Met(肝细胞生长因子受体)的活化和 HO-1 在肾脏和肺脏的诱导。抑制 HO-1 活性使 rhHGF 的保护作用消失,从而表明 HO-1 在脓毒症模型中能够协助 rhHGF 对机体起到保护作用^[16]。粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、促有丝分裂类物质对骨髓细胞的动员在一定程度上降低了 AKI。粒细胞集落刺激因子减少肾损伤并且提高由血红素蛋白诱导的 AKI 的生存率,G-CSF 可在体内外诱导肾脏表达 HO-1 并且 G-CSF 处理肾上皮细胞能够在体外抵抗血红素诱导的细胞凋亡。抑制血红素氧化酶的活性可以减弱 G-CSF 在体外和体内的细胞保护

作用^[17]。脂联素是一种由脂肪组织产生的细胞因子,能够发挥抗炎和血管保护的作用。缺血性 AKI 发生后,血浆中脂联素的含量随之降低,如果在缺血再灌注之前给予注射脂联素,能够减少细胞凋亡和炎症反应,从而防止 AKI^[18]。脂联素能够诱导体外培养的肾上皮细胞表达 HO-1,也能在肾脏缺血再灌注损伤后促进肾脏诱导表达 HO-1;在体外,抑制 HO-1 的活性能够降低脂联素的抗凋亡作用。这些研究表明,脂联素通过 HO-1 发挥肾脏保护作用。

HO-1 主要作用包括降解血红素,形成具有细胞保护作用的产物(一氧化碳、胆色素和铁蛋白),与铁相关蛋白结合。HO-1 及其产物能够发挥出广泛的细胞保护效应,因此笔者认为 HO-1 及其产物是维护细胞稳态的重要物质。

对 HO-1 和 AKI 的研究,包括本文的研究调查,是以 HO-1 的诱导为基础,以为治疗人 AKI 寻找支持为目标的。将这样一个潜在的治疗作用转变为现实临床治疗手段至少面临三大挑战^[19]。首先,HO-1 的诱导通常作为机体对应激的反应,因此不管在发病前还是在发病后,临床上如何能够人为的有效的诱导 HO-1 而不引起细胞损伤仍是一个挑战。其次,HO-1 的产物在低剂量时具有保护作用,但在高剂量时具有细胞毒性,目前能够诱导表达 HO-1 的药物已在实验室使用,但这类药物没有确定的有效治疗窗。再次,由于持续的 HO-1 的表达对机体是有害的,而短暂的 HO-1 的表达又可能是起不到该有的保护作用,因此如何在机体需要的最佳时间诱导 HO-1 也是一个具有挑战性的问题。

参考文献

- 1 Agarwal A, Bolisetty S. Adaptive responses to tissue injury: role of heme oxygenase-1[J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2013, 124(4):111-122
- 2 Nath KA. The role of renal research in demonstrating the protective properties of heme oxygenase-1[J]. *Kidney Int*, 2013, 84(1):3-6
- 3 Kim J, Zarjou A, Traylor AM, et al. In vivo regulation of the heme oxygenase-1 gene in humanized transgenic mice[J]. *Kidney Int*. 2012, 82(3):278-291
- 4 Deshane J, Kim J, Bolisetty S, et al. Sp1 regulates chromatin looping between an intronic enhancer and distal promoter of the human heme oxygenase-1 gene in renal cells[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(22):16476-16486
- 5 Ferenbach DA, Nkejibega NC, McKay J, et al. The induction of macrophage heme oxygenase-1 is protective during acute kidney injury

- ry in aging mice[J]. *Kidney Int*, 2011, (3):966-976
- 6 Ferenbach DA, Ramdas V, Spencer N, *et al.* Macrophages expressing heme oxygenase - 1 improve renal function in ischemia/reperfusion injury[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(9):1706-1713
 - 7 Wang H, Garvin JL, D'Ambrosio MA, *et al.* Heme oxygenase metabolites inhibit tubuloglomerular feedback in vivo [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300(4):H1320-H1326
 - 8 Singh P, Blantz RC, Rosenberger C, *et al.* Aberrant tubuloglomerular feedback and HIF-1 α confer resistance to ischemia after subtotal nephrectomy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(3):483-493
 - 9 Kang K, Nan C, Fei D, *et al.* Heme oxygenase 1 modulates thrombomodulin and endothelial protein C receptor levels to attenuate septic kidney injury[J]. *Shock*, 2013, 40(2):136-143
 - 10 南川川, 费东生, 康凯, 等. 血红素氧合酶/一氧化碳系统对脓毒症大鼠肾脏功能及内皮素-1 表达的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2013, 23(24):5929-5932
 - 11 Monu SR, Pesce P, Sodhi K, *et al.* HO-1 induction improves the type-1 cardiorenal syndrome in mice with impaired angiotensin II-induced lymphocyte activation[J]. *Hypertension*, 2013, 62(2):310-316
 - 12 Zarjou A, Bolisetty S, Joseph R, *et al.* Proximal tubule H-ferritin mediates iron trafficking in acute kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(10):4423-4434
 - 13 Nakao A, Faleo G, Shimizu H, *et al.* Ex vivo carbon monoxide prevents cytochrome P450 degradation and ischemia/reperfusion injury of kidney grafts[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(8):1009-1016
 - 14 Goebel U, Siepe M, Schwer CI, *et al.* Inhaled carbon monoxide prevents acute kidney injury in pigs after cardiopulmonary bypass by inducing a heat shock response[J]. *Anesth Analg*, 2010, 111(1):29-37
 - 15 Zager RA, Johnson AC, Becker K. Plasma and urinary heme oxygenase - 1 in acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(1):1048-1057
 - 16 Kamimoto M, Mizuno S, Matsumoto K, *et al.* Hepatocyte growth factor prevents multiple organ injuries in endotoxemic mice through a heme oxygenase - 1 - dependent mechanism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380(2):333-337
 - 17 Wei Q, Hill WD, Su Y, *et al.* Heme oxygenase - 1 induction contributes to renoprotection by G-CSF during rhabdomyolysis-associated acute kidney injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011, 301(1):F162-F170
 - 18 Cheng CF, Lian WS, Chen SH, *et al.* Protective effects of adiponectin against renal ischemiareperfusion injury via prostacyclin-PPAR α -heme oxygenase - 1 signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(4):239-249
 - 19 Nath KA. Human AKI and heme oxygenase - 1 [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(6):971-974

(收稿日期:2015-03-19)

(修回日期:2015-03-30)

microRNAs 在脑神经系统中的作用

向会尧 刘竞丽 宋承伟 蔡谋善

摘要 microRNAs (miRNAs) 是近年来医学科学研究的热点,而 miRNAs 在脑组织中含丰富,随着研究的逐步深入,越来越多的证据表明其不仅在神经系统的发育、分化过程中发挥重要作用,而且与神经系统疾病息息相关,可能会成为神经系统疾病诊断和治疗的新的突破点。

关键词 microRNAs 神经系统疾病 缺血性脑血管病

中图分类号 R742 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.045

microRNAs 简称 miRNAs 或小 RNAs, 是一类高度保守, 长度约为 22 个核苷酸的内源性非编码单链小分子 RNA, 广泛存在于植物、线虫、果蝇以及鼠和人等哺乳动物中, 因其能够在转录后水平调控基因的表达而备受关注。miRNA 基因首先转录成没有特定

结构的前体 pri-miRNA, 再由 Drosha 酶在核内加工, 产生 60~80nt 的发夹样 pre-miRNA 中间体, 进入胞质后由胞质内的 Dicer 酶加工, 产生成熟的单链 miRNA。单链 miRNA 是 RNA 介导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 的组成部分, 其功能是引导 RISC 作用于特定的 mRNA, 按照碱基互补配对原则与靶 mRNA 的 3'端非翻译区 (3'-UTR) 序列相互识别, 引起靶 mRNA 的降解和或翻译抑制^[1]。目前认为 miRNAs 直接调控基因组中 1/3 以上基因的表达, 不仅参与脑组织的发育、神经元的分化和高

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160168)

作者单位:443000 宜昌市第一人民医院(向会尧、宋承伟、蔡谋善);530021 南宁,广西医科大学第一附属医院(刘竞丽)

通讯作者:刘竞丽,教授,硕士生导师,电子信箱:lilicomet@163.com

com