

血红素氧合酶-1与肺纤维化*

曾赛丽 何振华 张秀峰

(南华大学附属第二医院呼吸内科 湖南 衡阳 421001)

摘要 血红素氧合酶-1(Heme Oxygenase-1)是一种氧化应激反应蛋白,广泛存在全身各组织器官。HO-1 及催化产物组成了重要的内源性保护系统,具有调控炎症、抗氧化损伤及抗细胞凋亡等作用,对于组织器官具有保护作用。肺纤维化发病机制复杂,氧化应激是肺纤维化的致病机制之一。HO-1 是一种重要的抗氧化剂,其通过多种途径参与致病,在肺纤维化致病过程中发挥重要作用。

关键词 血红素氧合酶-1 氧化应激 肺纤维化

中图分类号 R563.3 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 09-1794-03

Heme Oxygenase-1 and Pulmonary Fibrosis*

ZENG Sai-li, HE Zhen-hua, ZHANG Xiu-feng

(Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, China)

ABSTRACT: Heme Oxygenase-1 is an oxidative stress responsive protein, and exists in all of the tissues and organs. Heme Oxygenase-1 and its catalytic metabolites comprise the important endogenous protective system, with anti-inflammatory, anti-apoptotic, and antioxidative stress effects, and can protect the tissue and organ from injury. The pathogenesis of pulmonary fibrosis is complex, and oxidative stress is one of the pathogenesis of pulmonary fibrosis. HO-1 is an important antioxidant and is involved in pathogenesis through a variety of ways, which plays an important role in pulmonary fibrosis.

Key words: Heme Oxygenase-1; Oxidative stress; Pulmonary fibrosis

Chinese Library Classification(CLC): R563.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)09-1794-03

血红素氧合酶 (Heme Oxygenase HO) 是催化血红素氧化代谢的起始酶和限速酶。血红素降解产生等量的一氧化碳 (Carbon monoxide CO)、亚铁离子及胆绿素,胆绿素随后被胆绿素还原酶转化为胆红素。HO 存在 3 种同工酶 HO-1、HO-2、HO-3。HO-1 为诱导型,HO-2、HO-3 为结构型,通常不被诱导。HO-1 主要在应激状态下保护细胞和组织,对抗应激反应^[1]。研究表明 HO-1 在肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)的致病过程中起调节作用。本文就 HO-1 生物学特点、作用及与 PF 发生相关机制作一综述。

1 HO-1 概述

HO-1 又称热休克蛋白 32 (HSP32),分子量 32kD,是一种氧化应激蛋白,广泛分布于全身组织,在心、肺、脾、肝、骨髓、网状内皮系统和血管壁细胞表达较多,以脾的含量最高。在机体正常状态下,HO-1 处于低表达状态,许多理化因素可以诱导 HO-1 表达,如紫外线、热休克、重金属、血红素及其衍生物、内毒素、细胞因子、缺血、应激、高氧、低氧、高盐、以及发热、机械性损伤等应激状态均可以诱导 HO-1 的大量生成^[2]。其中血红素既是 HO-1 的底物,又是其诱导剂。金属螯合物如 DFO、N-乙酰-L-半胱氨酸则可以抑制 HO-1 的表达。HO-1 的调控是在转录水平进行调控,启动子区域包含许多顺式反应元件如激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1)结合位点、金属反应元件、抗氧化反应元件、热休克和血红素反应元件等,转录因子与这些

特殊元件结合可导致 HO-1 基因激活。转录因子主要包括转录因子 NF-E2 相关因子 2 (NF-E2-related factor 2, Nrf2)、AP-1 家族 (c-fos、c-jun 和 jun-B 等)、核因子-κ B (nuclear factor-κ B, NF-κ B)、cAMP/cGMP 应答元件结合蛋白 (cAMP/cGMP responsive element binding proteins, CREB) 和 Ets 家族等。目前研究最多的转录因子是 Nrf2 和 AP-1 家族,其中 Nrf2 最重要,它与 HO-1 抗氧化反应片段结合而调节相关基因,在细胞氧化应激反应中起重要作用。研究发现多条信号途径参与诱导 HO-1 表达:丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 途径、PKC 途径、cAMP 依赖蛋白激酶 A 途径、cGMP 依赖蛋白激酶 G 途径、蛋白磷酸酶途径,其中 MAPK 是主要诱导途径。

2 HO-1 的生物学作用

2.1 抗氧化作用

正常生理条件下,机体活性氧(ROS)和活性氮(RNS)的生成与清除处于动态平衡状态。研究发现,HO-1 能直接通过对抗氧化系统的直接调节以增强机体的抗氧化能力^[3]。HO-1 抗氧化损伤除了本身的生理作用机制外还与其代谢产物有关:①胆红素的抗氧化作用:研究表明,高胆红素能够减轻博来霉素所致 PF。胆红素是一种强有力的天然抗氧化剂,属于内源性抗氧化剂,其抗氧化作用明显强于非结晶尿酸盐、α-生育酚、维生素 C 等物质。Foresti 等^[4]在细胞培养液中加入胆红素发现其可明显增强细胞抗氧化损伤能力。Notas 等^[5]的研究结果显示,肝硬

* 基金资助:湖南省卫生厅科研计划项目 (B2009058)

作者简介:曾赛丽,电话:13875778936, E-mail: zsl_99@sohu.com

(收稿日期:2011-01-12 接受日期:2011-02-23)

化早期,随着胆红素的增加,机体抗氧化功能逐渐增强,表明胆红素与机体抗氧化系统有潜在的联系。②铁及蛋白的抗氧化作用:血红素被降解后释放的游离铁生成铁蛋白,铁蛋白亦有抗氧化损伤和细胞保护功能^[6]。活性氧、H₂O₂的毒性作用依赖于铁,其与细胞内游离铁结合,通过 Fenton 反应,产生毒性作用,而铁蛋白的合成可以阻断上述反应的发生。③CO 的抗氧化作用:具有舒张血管作用,有助于维持正常生理状态及急性肺损伤缺氧状态下肺组织氧合及灌注。实验表明,低浓度吸入 CO 能抑制博来霉素所致的 PF。

2.2 HO-1 抗炎作用

研究发现增加 HO-1 表达能减轻肺泡扩张,减少支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白介素 -6 (Interleukin-6, IL-6) 和趋化因子的含量,同时能增加抗炎细胞因子 IL-10 的水平。HO-1 通过抑制细胞间黏附分子 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达^[7]、调节致炎和抗炎细胞因子及趋化因子的水平,以及抑制中性粒细胞的聚集,从而显著抑制过敏性气道炎症、黏液高分泌、氧化应激和气道高反应性。HO-1 的代谢产物 CO, 是体内 CO 主要来源,可减轻氧自由基引起的大鼠气道内中性粒细胞浸润,低浓度 CO 能抑制促炎因子 TNF- α 、血小板源性生长因子及内皮素 -1 的产生,从而起到抗炎作用。CO 是一种重要的细胞信使分子,参与细胞的功能调节和信号转导作用,在基因水平调控炎症反应^[8]。HO-1 的代谢产物胆绿素能减轻白细胞与血管内皮细胞的粘附,抑制 NADPH 氧化酶的激活、抑制单核细胞的趋化^[9]。Sarady-Andrews^[10]等发现胆绿素能减轻肺部炎症并改善长期生存率,并在细胞水平观察到胆绿素对肺内皮细胞系和巨噬细胞系的直接保护作用。胆绿素是补体系统的抑制剂,主要通过抑制经典途径 C1 的激活,从而保护组织免遭补体活化介导的炎症损伤。

2.3 抗凋亡作用

在大鼠模型中,腺病毒转染 HO-1 基因能减轻博来霉素诱导的 PF 程度,这可能与减轻上皮细胞凋亡,使干扰素 γ (interferon- γ , INF- γ) 的产生增加有关^[6]。HO-1 抗凋亡作用主要通过其酶解产物 CO 来实现。在血管内皮细胞模型中,CO 对 TNF- α 诱导的凋亡的抑制效应能被 SB203580 或 P38 负显性突变体所抑制,这提示在 CO 的抗凋亡过程中 p38MAPK 通路是关键信号途径^[11]。进一步研究发现,HO-1 或 CO 与 NF- κ B 依赖抗凋亡基因一起保护血管内皮细胞免受 TNF- α 介导的凋亡。另外,HO-1 抗凋亡作用还与其上调细胞周期抑制蛋白 P21 有关^[12]。

3 HO-1 与 PF

PF 是一种发病机制不清、缺乏有效治疗手段的弥漫性肺间质疾病。在博来霉素致 PF 模型中,肺泡巨噬细胞脂质过氧化损伤在时间上先于其释放的细胞因子 TNF- α 、PDGF 及生长相关的细胞因子的释放,从而推断肺泡巨噬细胞的脂质过氧化损伤激活肺泡巨噬细胞,同时,触发其释放细胞因子参与 PF 形成^[13]。氧化应激是 PF 的致病机制之一^[14]。氧化应激是指机体对外界或内部的各种氧化作用非常刺激所产生的非特异性应答的总和^[15],是活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮

(reactive nitrogen species, RNS) 造成的氧化损伤。即当自由基的产生过多或体内抗氧化系统出现故障,体内氧自由基代谢就会出现失衡,自由基蓄积过多,攻击机体,导致可能的损害。氧化应激可能通过以下几种途径导致 PF: ①下呼吸道炎症细胞的氧化应激产物对蛋白质、脂质和 DNA 的直接氧化作用,干扰细胞、组织的完整性。②氧化应激导致脂质介质的产生增加,如前列腺素和白三烯^[16]等,加重局部炎症反应。③氧化应激影响细胞结构和凋亡,改变细胞微环境平衡。氧化应激可通过破坏胞内氧化还原状态的平衡发生损伤作用。④氧化应激产物干预细胞信号转导途径,导致前炎症核转录因子如 NF- κ B、AP-1 的激活,促使细胞合成并释放大炎症介质,诱导内源性 ROS 的产生,进一步促进了氧化/抗氧化失衡的发生。炎症介质与氧化应激产物相互作用。当炎症细胞被激活产生大量的氧自由基,直接导致肺组织的脂质过氧化,启动前炎症反应,同时,激活 NF- κ B^[17],从而导致与炎症和纤维化相关的一些基因上调,包括 IL-1, TNF- α 等,进一步促进 PF 的形成。

HO-1 是保护细胞抗氧化损伤的重要媒介,能够清除自由基,抑制 ROS 的活性,上调其他抗氧化剂活力,如 SOD、GSH 等,是肺内重要的抗氧化剂之一。其主要在支气管巨噬细胞中表达,尤其是上皮细胞,其他细胞包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、浆细胞等很少表达。HO-1 参与多种肺疾病的致病,如哮喘、慢性阻塞性肺病、肺缺血再灌注损伤、呼吸机相关性肺损伤、间质性肺病等。研究发现,增加 HO-1 的表达,能够减轻高氧所致的大鼠肺损伤,及大鼠存活时间更长; Fujita 等^[18]在缺血-再灌注诱导的肺损伤中发现,HO-1 基因缺陷小鼠较 HO-1 基因正常者对缺血-再灌注的敏感性增加,肺水肿、炎症细胞浸润等损伤表现明显加重,动物病死率增高; 内毒素致急性肺损伤研究中,发现 HO 基因缺乏组的肺脏功能障碍更为严重,其可能与表面活化剂蛋白 B 减少有关^[19]。在 PF 大鼠模型中,HO-1 的表达明显增加^[20]。主要机制有: ①缺氧激活缺氧诱导因子 (HIF-1),进而诱导 HO-1mRNA 基因转录。②氧化反应使体内氧自由基增多,氧自由基通过激活细胞核因子 (NF- κ B) 和 AP-1 调节 HO-1mRNA 转录和合成。③谷胱甘肽水平下降、脂质过氧化物增多,氧化抗氧化失衡,诱导肺 HO-1 基因表达。④IL-1、IL-5、IL-6 等细胞因子分泌的增加可直接诱导 HO-1 基因表达。⑤内源性 NO 的增加能诱导 HO-1 基因的转录^[21]。⑥酸中毒使体内游离 Ca²⁺增多可直接诱导 HO-1 合成。

在 PF 的动物实验中,Tsubuai^[22]等发现腺病毒转染 HO-1 基因能够减轻肺纤维化程度。同样在动物实验中,Atzori^[23]使用 HO-1 抑制剂处理后,PF 的程度有所减轻。这种矛盾的结果可能是抑制剂使用的时间不同,Tsubuai 实验中 HO-1 基因转染是在博来霉素处理之前,而在 Atzori 实验中,HO-1 抑制剂的使用是在博来霉素处理之后。故可推测 HO-1 在 PF 的不同阶段 (早期的炎症阶段、后期的纤维化阶段)、不同的浓度可能发挥不同的作用。

4 展望

随着对 HO-1 的细胞保护机制研究的深入,HO-1 的作用机制及抗氧化损伤的机制将最终被阐明。研究已经发现脂质氧

化先于细胞因子的释放,HO-1 作为一种重要的氧化应激蛋白,在 PF 的致病过程中起着重要的作用,合理调控 HO-1 的表达为 PF 的治疗提供新的思路。

参考文献 (References)

- [1] Ryter SW, Choi AM. Heme oxygenase-1: redox regulation of a stress protein in lung and cell culture models [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7:80-91
- [2] Farombi EO, Surh YJ. Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection [J]. *Biochem Mol Biol*, 2006, 39 (5): 479-491
- [3] Hori RK, ashiba M, Toma T, et al. Gene transfection of H25A mutant heme oxygenase-1 protects cells against hydroperoxide-induced cytotoxicity[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (12) :10712-10718
- [4] Foresti R, Goatly H, Green CJ, et al. Role of heme oxygenase - 1 in hypoxia reoxygenation: requirement of substrate heme to promote cardioprotection [J]. *Am J Physiol Heart Cir Physiol*, 2001, 281 (5): H1976 - H1984
- [5] Notas G, Miliaraki N, Kampa M, et al. Patients with primary biliary cirrhosis have increased serum total antioxidant capacity measured with the crocin bleaching assay [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11 (27) :4194-4198
- [6] Stefan W, Ryter, Jawed Alam, et al. heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications [J]. *Physiol Rev*, 2006, 86 :583-650
- [7] Cheng AM, Moore EE, Johnson JL, et al. Polymerized hemoglobin induces heme oxygenase -1 protein expression and inhibits intercellular adhesion molecule -1 protein expression in human lung microvascular endothelial cells[J]. *J Am Coll Surg*, 2005, 201(4) :579-584
- [8] Ryter SW, Choi AM. Therapeutic applications of carbon monoxide in lung disease[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2006, 6(3) :257-262
- [9] Nath KA, Vercellotti GM, Grand GP, et al. Heme protein induced chronic renal inflammation: suppressive effect of induced heme oxygenase-1[J]. *Kidney Int*, 2001, 59(1) :106-117
- [10] Sarady-Andrews JK, Liu F, Gallo D. Biliverdin administration protects against endotoxin-induced acute lung injury in rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289 (6) :L1131-1137
- [11] Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AM, and Soares MP. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses endothelial cell apoptosis [J]. *J Exp Med*, 2000, 192: 1015-1026
- [12] Inguaggiato P, Gonzalez Michaea L, Croatt AJ, et al. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 upregulates P21 and confers resistance to apoptosis[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(6) :2182-2191
- [13] 陈佰义, 姜莉, 侯显明. 实验性肺纤维化大鼠肺泡巨噬细胞脂质过氧化先于其细胞因子的释放. *中国病理生理杂志*, 2000, 16 (1) : 1228-1230
- [14] Vuokko L, Kinnula, Cheryl L, et al. Oxidative stress in Pulmonary fibrosis[J]. *Am J Res Pir Crit Care Med*, 2005, 172 :417-422
- [15] Porwol T, Ehleben W, Brand V, Acker H. Tissue oxygen sensor function of NADPH oxidase isoforms unusual cytochrome aa3 and reactive oxygen species[J]. *Respir Physiol*, 2001, 128 :331-348
- [16] Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy[J]. *Ann Intern Med*, 2001, 134 :136-151
- [17] Lou H, Kaplowitz N. Glutathione depletion down-regulates tumor necrosis factor alpha induced NF- κ B activity via Ik B kinase - dependent and -independent mechanisms [J]. *J Biol Chem*. 2007, 282 (40) :29470-81
- [18] Fujita T, Toda K, Karimova A. Paradoxical rescue from ischemic lung injury by inhaled carbon monoxide driven by derepression of fibrinolysis[J]. *Nat Med*, 2001, 7(5) :598-604
- [19] Laura E. Fredenburgh, Mark A. Perrella, and S. Alex Mitsialis, The Role of Heme Oxygenase-1 in Pulmonary Disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, (36) :158-165
- [20] Kaminski N, Allard JD, Pittet JF, et al. Global analysis of gene expression in pulmonary fibrosis reveals distinct programs regulating lung inflammation and fibrosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 1778-1783
- [21] Stefan W. Ryter and Augustine M. K. Choi. Heme Oxygenase-1/Carbon Monoxide from metabolism to molecular therapy[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 41 :251-260
- [22] Tsuburai T, Suzuki M, Nagashima Y, et al. Adenovirus-mediated transfer and overexpression of heme oxygenase-1 cDNA in lung prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis via a Fas-Fas ligand-independent pathway[J]. *Hum Gene Ther*, 2002, 13 :1945-1960
- [23] Atzori L, Chua F, Dunsmore SE, et al. Attenuation of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice using the heme oxygenase inhibitor Zn-deuteroporphyrin IX-2,4-bisethylene glycol [J]. *Thorax*, 2004, 59: 217-223