

ACE2 在慢性间歇低氧肺组织氧化应激损伤中的作用*

寇育乐, 张盼盼, 王红阳[△], 张嘉宾, 谭曦舒, 黄超, 张敏

华北理工大学附属医院 呼吸科 (唐山 063000)

【摘要】 目的 观察血管紧张素转换酶 2(ACE2)在慢性间歇低氧(CIH)大鼠肺组织氧化应激损伤中的动态变化,探讨其在 CIH 肺损伤中可能的作用机制。方法 96 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照组(UC 组)、CIH 组、依达拉奉治疗组(NE 组)、安慰剂(0.9%NaCl)治疗组(NS 组),并分为 1 周、2 周、3 周、4 周 4 个时间亚组,每亚组 6 只大鼠。UC 组暴露于空气中,CIH 组、NE 组及 NS 组分别暴露于 CIH 环境下,NE 组每日给予依达拉奉注射液(3 mg/kg)尾静脉注射,NS 组给予 0.9%生理盐水(3 mg/kg)尾静脉注射。实验结束后,取各组大鼠肺组织标本,观察肺组织病理变化、应用免疫组化检测肺组织 ACE2 蛋白的表达,丙二醛(MDA)测定试剂盒检测 MDA 水平、实时荧光定量 PCR 法检测 ACE2 mRNA、血管紧张素 II(Ang II) mRNA 的表达。结果 UC 组未见明显病理损害,而 CIH 组及 NS 组肺泡壁水肿增厚,肺泡萎缩不张,肺间质及支气管上皮内也可见中性粒细胞浸润,且随时间延长病理损伤逐渐加重,与 NS 相比 NE 组出现病理损伤的时间较晚且程度较轻;与 UC 组比较,CIH 组及 NS 组 MDA 含量、Ang II mRNA 表达在观察时间点内均逐渐增加($P<0.05$),于 4 周达到高峰;而 ACE2 蛋白及 ACE2 mRNA 1 周、2 周呈逐渐增高趋势($P<0.05$),于 2 周时达到峰值,然后逐渐下降($P<0.05$);与 NS 组比较,NE 组各指标升高幅度较低,依达拉奉能抑制 CIH 引起的各指标的的增加($P<0.05$);CIH 组肺组织 Ang II mRNA 水平与 MDA 含量均呈正相关($r=0.782$, $P<0.01$)。结论 提示 ACE2 对慢性间歇低氧大鼠肺组织氧化应激损伤有一定的保护作用,其机理可能与对 Ang II 降解作用增强有关。

【关键词】 间歇低氧 肺损伤 氧化应激 ACE2 Ang II

Protective Effect of Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) Against Chronic Intermittent Hypoxia-induced Pulmonary Oxidative Stress Injury in Rats KOU Yu-le, ZHANG Pan-pan, WANG Hong-yang[△], ZHANG Jia-bin, TAN Xi-shu, HUANG Chao, ZHANG Min. Department of Respiration, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan 063000, China

[△] Corresponding author, E-mail: tsmwhy@163.com

【Abstract】 **Objective** To determine changes of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in the development of chronic intermittent hypoxia (CIH)-induced pulmonary injury in rats and its mechanism. **Methods** 96 adult male Wistar rats were randomly allocated into four groups: control (UC) group, chronic intermittent hypoxia (CIH) group, normal saline treated CIH (NS) group, and edaravone treated CIH (NE) group. Each group contained four subgroups of rats ($n=6$) subjecting to 1 week, 2 weeks, 3 weeks, and 4 weeks experiment, respectively. No intervention was given to rats in the UC group. Rats in the experimental groups were exposed to alternating cycles of nitrogen and compressed air. Rats in the NS and NE groups received daily injection of 0.9% normal saline (3 mg/kg) and edaravone (3 mg/kg), respectively. Pulmonary sections were taken and stained with hematoxylin-eosin (HE). The levels of malondialdehyde (MDA), ACE2, ACE2 mRNA, and angiotensin II (Ang II) mRNA in the rat homogenate pulmonary samples were measured. **Results** Rats in the CIH and NS groups showed high levels of interstitial edema, alveolar atelectasis, and inflammatory cell infiltration in alveolar epithelial cells. The pulmonary injury got worse over time. Rats in the NE group showed later occurrence and milder pulmonary injury compared with those in the NS group. Rats in the CIH and NS groups had higher levels of MDA and Ang II mRNA (which increased over time) than those in the UC group ($P<0.05$). The expression of ACE2 and the level of ACE2 mRNA increased in rats in the CIH group ($P<0.05$), and peaked at 2 weeks ($P<0.05$). Rats in the NE group had moderately increased levels of MDA and Ang II mRNA compared with those in the NS group ($P<0.05$); moderately increased levels of expression of ACE2 and ACE2 mRNA compared with those in the UC and SC groups ($P<0.05$). The pulmonary level of Ang II mRNA was positively correlated with MDA ($r=0.782$, $P<0.01$) in

* 河北省重大医学科研项目(No. zd2013091)资助

[△] 通讯作者, E-mail: tsmwhy@163.com

rats in the CIH group. **Conclusion** CIH can activate oxidation stress and Ang II, which maybe an important mechanism of CIH-induced pulmonary injury.

【Key words】 Chronic intermittent hypoxia Pulmonary injury Oxidation stress Angiotensin converting enzyme 2 Angiotensin II

血管紧张素转换酶 2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)是一种金属肽酶^[1,2]。研究发现, ACE2 在肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)中的作用与 ACE 截然相反^[3], 其可以通过血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)产生血管紧张素 1~7(angiotensin 1-7, Ang 1-7),它具有促使血管扩张、抗增殖及促进细胞凋亡等作用。另外, ACE2 在呼吸系统疾病中的作用也逐渐得到重视。已有流行病学资料表明睡眠呼吸暂停低通气综合征(sleep apnea hypopnea syndrome, SAHS)患者可以多种呼吸系统疾病重叠存在,如慢性阻塞性肺病、哮喘、肺动脉高压等疾病^[4-6],但 SAHS 相关性肺疾病的发病机制至今未明确。SAHS 最基本病理生理特点为慢性间断性低氧(chronic intermittent hypoxia, CIH),且 SAHS 的多种并发症都与 CIH 密切相关。已有临床报道及动物实验提示 SAHS 患者及间歇低氧动物模型存在 RAS 系统激活^[7],但关于 CIH 模型肺组织中 RAS 系统的变化少有报道。那么 CIH 是否会通过激活 RAS 系统导致肺组织损伤?为排除其他因素存在引起的诸多干扰,本研究通过模拟 SAHS 患者低氧模式,观察了慢性间歇低氧诱发大鼠肺损伤发病过程中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、ACE2 及 Ang II 的动态变化,并以依达拉奉处理作为对照,探讨其在慢性间歇低氧诱发大鼠肺损伤发病机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 低氧暴露装置

间歇低氧模型系统组成:气源部分、程序控制部分及间歇低氧暴露容器(长沙长锦科技有限公司)。按照文献^[8]编写低氧/复氧循环次数,单片机芯预先设定程序,控制固态继电器,由压力流量表控制流速,电磁阀控制气体通/断,继而控制压缩空气净化器,通过调整氮气及空气流速从而控制低氧浓度及复氧时间。在间歇低氧程序中设有一个容积非常小、密闭的氧浓度检测盒及微量气泵,氧浓度检测盒入口、出口通过 2 个电磁阀分别与各低氧箱相连。

1.2 实验动物分组及模型制备

96 只清洁级健康成年雄性 Wistar 大鼠[许可证号:SCXK(津)2009-0001],体质量(150±10)g,

购于天津市山川红实验动物科技有限公司。采用随机数字表法将其分为正常对照组(UC 组)、5%间歇低氧组(CIH 组)、依达拉奉治疗组(NE 组)、安慰剂治疗组(NS 组),各组又分为 1 周、2 周、3 周、4 周亚组,每亚组各 6 只大鼠。参照文献^[8],UC 组暴露于空气中,CIH 组每天 8:00~15:00 时循环暴露于氮气和压缩空气中(每一循环 120 s,使舱内最低氧浓度达 5%,后恢复至 21%,流速压力均为 0.8 MPa,7 h/d),NE 组及 NS 组除与 CIH 组暴露于相同的间歇低氧环境外,NE 组每日清晨 7:00 给予依达拉奉注射液(3 mg/kg)尾静脉注射,NS 组每日清晨 7:00 给予 0.9%生理盐水(3 mg/kg)尾静脉注射。实验持续 4 周。

1.3 肺组织标本的获取

分别在实验第 1、2、3 和 4 周腹腔注射 10%(体积分数)水合氯醛(300 mg/只)麻醉大鼠,开胸,经右心室插管至肺动脉,用生理盐水快速冲洗后,取右肺置于 4%(体积分数)甲醛中固定,石蜡包埋;取左肺经液氮速冻后保存于-80℃冰箱,分别进行各项指标检测。

1.4 肺组织 HE 染色

取右肺组织石蜡块,沿平行肺门方向切片(德国 LEICA),片厚度 4 μm,63℃烘片 40 min,切片常规脱蜡后加入苏木素液染色,1%盐酸酒精分化 1~2 s,流水冲洗,静置反蓝,伊红染色,再次梯度脱水、透明、封片。取各组各时间点 10 张标本片在光学显微镜下以相同倍数(×200)分别选取不同部位摄片。

1.5 肺组织 ACE2 表达检测

将肺组织石蜡块切片,片厚 4 μm,切片常规脱蜡及梯度脱水,枸橼酸盐高压修复,滴加 ACE2 抗体(1:200),湿盒中 4℃过夜,加入 IgG 抗体-HRP 多聚体,37℃温箱孵育 50 min, DAB 显色,梯度脱水、透明、封片。其中以 PBS 代替一抗作阴性对照。取各组各时间点每只动物 5 张标本片在 200 倍光学显微镜下分别选取不同部位摄片,利用 Motic 医学图像分析系统中免疫组化分析模块单点分割法分析,取相同面积阳性目标的积分光密度(IOD)值。

1.6 肺组织 MDA 检测

黄嘌呤氧化酶法 MDA 试剂盒及 BCA 蛋白浓

度测定试剂盒购于碧云天生物技术研究。冻存左肺组织转入 4℃冰箱解冻后,转至常温融化,取适量肺组织(约 0.2 g)剪碎后,加入约 1.5 mL RIPA 细胞裂解液中,电动匀浆器匀浆,匀浆过程均在冰上操作。将匀浆液置于低温离心机(德国 SORVALL LEGEND RT) 4 000 r/min 离心,取上清液待用。BCA 试剂盒测蛋白浓度,按照 MDA 试剂盒说明书,测定肺组织 MDA 含量。

1.7 肺组织 ACE2 mRNA 及 Ang II mRNA 检测

采用实时荧光定量 PCR 法。ACE2 mRNA、Ang II mRNA 上、下游引物由上海生工合成。组织 RNA 提取试剂盒(北京博迈德生物有限公司),逆转录及扩增试剂盒(TaKaRa)。严格按照试剂盒说明书进行操作。冰上取材冻存的左肺组织,每份样本约 30 mg,严格按照组织 RNA 提取试剂盒提取 mRNA,测 RNA 浓度,并将提取的 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳判断所提 RNA 有无降解,根据 TaKaRa 试剂盒方法合成 cDNA,按照 TaKaRa 扩增试剂盒 20 μL 体系扩增,ACE2、Ang II 的上、下游引物各 0.4 μL cDNA(ACE2 正向引物:5'-ACG AAG CCG AAG ACC TGT T-3',反向引物:5'-GGA AGG TGT GGA CTG TTC CT-3';Ang II 正向引物:5'-GGG AAG GGA ATG AGG CTT AC-3',反向引物:5'-GGT TGG CTG ATG CTG CTT AT -3'),cDNA 模板 2.0 μL,ROX1 0.4 μL,荧光(避光)

10 μL,将以上混合物按以下条件进行扩增,最初 95℃预变性 30 s,后 95℃5 s,60℃31 s,共 40 个循环。分别得到扩增曲线、熔解曲线和待测样本表达量,应用分析软件 Rotor-Gene3000 判断熔解曲线特异性及扩增曲线是否为阳性,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 相对定量分析法计算出各组 ACE2 mRNA、Ang II mRNA 的相对含量。

1.8 统计学方法

数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,用 LSD-*t* 进行两两比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。运用 Pearson 相关性分析法分析 CIH 组肺组织 Ang II mRNA 与 MDA 表达水平之间的关系, $P<0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肺组织病理变化

见图 1。2 周时,UC 组大鼠未见明显肺损伤;CIH 组、NS 组可见肺泡壁增厚伴少量的肺泡萎缩不张,肺间质内及支气管上皮可见中性粒细胞浸润,随时间延长病理损伤越重;而 NE 组病理损伤明显轻于 CIH 组及 NS 组。

2.2 各组大鼠肺组织 ACE2 的水平

见图 2。ACE2 蛋白在各组大鼠的各时间段均有表达。以胞浆表达为主,胞浆呈棕黄色或浅黄色。UC 组有一定的基础表达,与 UC 组比较,CIH 组

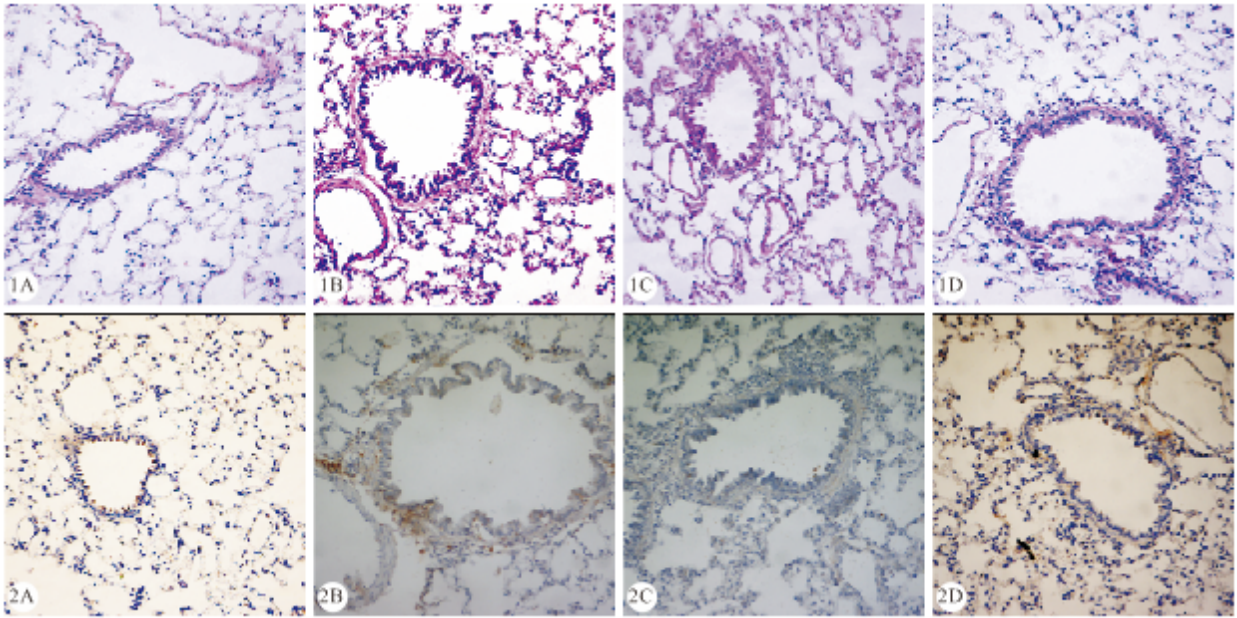


图 1 各组大鼠 2 周时肺组织病理改变。HE ×200

图 2 大鼠 2 周时肺组织 ACE2 的表达。SP ×200

Fig 1 Pathological changes in rat pulmonary tissues at 2 weeks. HE ×200 Fig 2 Expression of ACE2 in rats at 2 weeks . SP ×200
A: UC group; B: CIH group; C: NS group; D: NE group

ACE2 蛋白于间歇低氧 2 周即出现最强表达($P<0.05$),随后表达逐渐下降;而与 NS 组 ACE2 蛋白先高后低的表达趋势不同,经依达拉奉干预的 NE 组 ACE2 蛋白呈逐渐增高趋势(表 1)。

2.3 各组大鼠肺组织中 MDA 含量

表 1 各组大鼠肺组织中 ACE2 蛋白的表达($\bar{x}\pm s$,IOD 值)

Table 1 Immunohistochemical staining of ACE2 protein in rat pulmonary tissues ($\bar{x}\pm s$, IOD value)

Group	n	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	F	P
UC	6	12.35±0.85	12.73±0.63	12.73±0.56	12.52±0.66	0.54	>0.05
CIH	6	17.40±0.67*	25.12±0.42*	22.07±0.41*	20.71±0.20*	363.54	<0.05
NS	6	17.32±0.56	25.16±0.61	22.22±0.27	18.17±0.28	395.21	<0.05
NE	6	14.92±0.40#	19.10±0.30#	22.10±0.30	23.02±0.45#	407.97	<0.05
F		83.58	827.61	750.47	362.00		
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

* $P<0.05$, vs. UC group; # $P<0.05$, vs. NS group

表 2 各组大鼠肺组织中 MDA 含量(nmol/mg, $\bar{x}\pm s$)

Table 2 The level of MDA in rat pulmonary tissues (nmol/mg, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	F	P
UC	6	1.69±0.62	1.71±0.52	1.67±0.69	1.67±0.74	0.58	>0.05
CIH	6	2.24±0.55*	2.87±0.66*	3.47±0.68*	5.06±0.16*	932.61	<0.05
NS	6	2.20±0.52	2.68±0.42	3.44±0.96	5.03±0.19	162.83	<0.05
NE	6	1.89±0.40#	2.33±0.47#	3.00±0.72#	3.87±0.13#	700.62	<0.05
F		150.42	33.40	700.79	710.70		
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

* $P<0.05$, vs. UC group; # $P<0.05$, vs. NS group

2.4 各组大鼠肺组织 ACE2 mRNA 及 Ang II mRNA 的水平

见表 3。与 UC 组比较,CIH 组 ACE2 mRNA 于间歇低氧 2 周即出现最强表达量,随后表达逐渐下降;而与 NS 组 ACE2 mRNA 先高后低的表达趋势不同,经依达拉奉干预的 NE 组 ACE2 mRNA 呈

见表 2。与 UC 组比较,CIH 组 MDA 含量随间歇低氧时间的延长逐渐增多,于 4 周时达高峰($P<0.05$)。而经依达拉奉干预的 NE 组 MDA 含量亦随缺氧时间的延长逐渐增多,于 4 周时达高峰,但 NE 组 MDA 整体水平低于 NS 组($P<0.05$)。

逐渐增高趋势。

见表 4。与 UC 组比较,CIH 组于各时间点 Ang II mRNA 表达水平均增高($P<0.05$),于 4 周表达最强;与 NS 组比较,NE 组各时间点 Ang II mRNA 表达水平均下降($P<0.05$),结果提示 NE 组给予依达拉奉干预后可以降低 Ang II mRNA 的

表 3 各组大鼠肺组织中 ACE2 mRNA 水平($\bar{x}\pm s$)

Table 3 The level of ACE2 mRNA in rat pulmonary tissues ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	F	P
UC	6	0.44±0.04	0.43±0.04	0.41±0.05	0.39±0.04	1.18	>0.05
CIH	6	0.60±0.05*	1.01±0.06*	0.84±0.03*	0.62±0.02*	124.48	<0.05
NS	6	0.59±0.05	1.02±0.05	0.84±0.02	0.62±0.03.	162.57	<0.05
NE	6	0.82±0.03#	0.77±0.03#	1.07±0.03#	1.12±0.03#	395.21	<0.05
F		20.71	216.06	374.80	342.26		
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

* $P<0.05$, vs. UC group; # $P<0.05$, vs. NS group

表 4 各组大鼠肺组织中 Ang II mRNA 水平($\bar{x}\pm s$)

Table 4 The level of Ang II mRNA in rat pulmonary tissues ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	F	P
UC	6	0.42±0.03	0.40±0.04	0.40±0.04	0.39±0.04	0.74	>0.05
CIH	6	0.58±0.05*	0.88±0.03*	1.18±0.04*	1.62±0.02*	889.80	<0.05
NS	6	0.59±0.03	0.98±0.02	1.17±0.08	1.51±0.07	532.56	<0.05
NE	6	0.50±0.01#	0.70±0.03#	0.83±0.02#	1.09±0.10#	132.66	<0.05
F		45.29	341.30	315.32	633.90		
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05		

* $P<0.05$, vs. UC group; # $P<0.05$, vs. NS group

表达 CIH 组肺组织 *Ang II* mRNA 与 MDA 呈正相关($r=0.782$, $P<0.01$)。

3 讨论

由于 SAHS 诊断率、知晓率及患者依从性较低,严重影响着人民的健康水平。更为关键的是 SAHS 的系统性损害,大约 40%~50% 的 SAHS 患者存在合并症,在 SAHS 的诸多靶器官损害中,呼吸系统由于其特殊的生理特点不可避免的受到累及。临床研究中已证实 SAHS 患者合并存在慢性咳嗽、哮喘、慢性阻塞性肺疾病、肺动脉高压、肺心病等 SAHS 疾病^[4-6]。既往一项针对 CIH 对呼吸活动影响的研究证实,CIH 导致大鼠酸碱值(pH)和氧分压(PO_2)下降, CO_2 潴留,并主要引起大鼠肺通气功能明显下降。本研究中通过模拟 SAHS 低氧模式建立 CIH 大鼠模型,与 UC 组比较,CIH 组大鼠随间歇低氧状态时间延长肺组织病理损伤越重,这说明 CIH 导致了大鼠肺损伤。

越来越多的研究显示 SAHS 及其并发症与氧化应激之间有紧密的联系,氧化应激带来的脏器损伤可能是 SAHS 多种并发症发病机制的共同通道^[9]。SAHS 患者的确存在系统性及局部的氧化应激。伴随着 SAHS 患者频繁发生呼吸暂停,造成机体经历反复缺氧-再氧合,大量氧自由基产生,活性氧(ROS)作为氧化应激的标志物,证明机体处于氧化应激状态。既往有研究通过检测 SHSA 患者呼出冷凝液中 8-异前列腺素(8-isoprostane)证实了 SAHS 患者的确存在下呼吸道的氧化应激反应^[10]。本研究结果显示,CIH 组大鼠肺组织中 MDA 量高于 UC 组,而经依达拉奉预处理的 NE 组 MDA 量较 NS 组低,因此证实 CIH 可以导致肺组织氧化应激状态。

RAS 是机体重要的调节系统,由 ACE-Ang II-AT1R 和 ACE2-Ang(1~7)-Mas 两个相互拮抗的轴组成,多种致病因素可引起前者的异常激活导致细胞增殖、炎症和纤维化,促进疾病的进展,而目前认为后者主要起保护作用^[3]。最近有临床研究报告^[7] SAHS 患者血浆 Ang II 水平较健康对照组明显升高,并且经持续正压通气(CPAP)有效治疗后可使其恢复正常;同时有研究表明,RAS 可能参与了氧化应激损伤的机制。本研究观察到 Ang II mRNA 的升高与 MDA 呈正相关,可见氧化应激可能是引起 RAS 系统激活的重要因素,当 Ang II 升高后 MDA 又进一步升高,提示 Ang II 可能反过来刺

激氧化产物的生成,形成恶性循环加速 CIH 相关性肺损伤。推测其可能机制是:一方面,Ang II 可激活膜结合的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADH /NADPH)氧化酶,从而导致活性氧及过氧化物合成的增加,另一方面,Ang II 含量的升高会使 Ang II 通过其受体引起氧化应激^[11]。而经依达拉奉干预后 MDA 及 Ang II 较 NS 组有所降低,表明 Ang II 可能参与了 CIH 肺组织氧化应激损伤过程。

Crakower 等^[12]研究发现,ACE2 基因敲除小鼠表现为血浆及局部组织 Ang II 水平明显升高和严重的心脏功能受损,由此证实了 ACE2 对 RAS 可能起着负调控作用,一方面 ACE2 通过灭活 Ang II 而限制其作用,另一方面生成 Ang(1~7)抵消 Ang II 的作用。体外研究发现,ACE2 对 Ang II 的催化效率要比 Ang I 高出约 400 倍,可见 Ang II 催化为 Ang(1~7)是 ACE2 的主要生理效应。2003 年研究发现 ACE2 是 SARS 冠状病毒的受体,并证实 ACE2 在严重的肺损伤中起保护作用^[13],自此关于 ACE2 与肺疾病的关系越来越受到人们的重视。体内实验表明,在相同强度的致病因子打击下(如脓毒血症、酸吸入等),ACE2 基因敲除小鼠急性肺损伤的表现比野生型小鼠更显著,而给这两种小鼠注射重组人 ACE2 均能够减轻急性肺损伤的程度^[14]。随临床研究的进展,发现肺纤维化尸检标本中发现 ACE2 的表达下降^[15],肺组织 ACE2 表达增加可以减轻肺动脉中膜肥厚而激活 ACE2 可以抑制肺动脉高压的形成^[16]。因此 ACE2 是负性调节因子,对肺组织有显著保护作用。对于 ACE2 在肺脏疾病长期慢性缺氧性疾病中的保护作用已有实验证实,但对于肺组织间歇性低氧尚无报道。本研究中 CIH 组 1 周及 2 周组肺组织病理损伤较轻,ACE2 呈高表达,可以推测在疾病发生早期 ACE2 高表达是机体的一种代偿性保护机制,而 3~4 周组肺组织病理损伤较重,MDA 水平显著上升,Ang II 含量显著升高,ACE2 的酶活力显著下降,提示氧化应激状态下,ACE2 酶活力的降低使血清中 Ang II 的降解减少,高水平的 Ang II 导致活性氧生成增加,肺组织的氧化应激状态恶化。这与向永红等^[17]在 CIH 相关性高血压试验中结果一致。再次推断了 ACE2 对 CIH 肺组织氧化应激损伤的保护作用,验证了 ACE2 对 RAS 系统的负调节作用这一假设。

依达拉奉是一种新型氧自由基清除剂,已经被广泛用于急性肺损伤、肺间质纤维化^[18]及肺缺血再

灌注损伤。本研究结果提示与安慰剂预处理组 NS 组比较,依达拉奉处理组 NE 组肺组织病理损伤较轻,肺脏中 MDA、Ang II 含量显著下降,ACE2 降低程度较 NS 组低及降低时间较 NS 组延迟。因此推断,ACE2 可能在间歇低氧致大鼠肺组织氧化应激损伤中起到了一定的保护作用。

本研究中可能为临床 SAHS 的研究及治疗开拓新的途径。从目前的研究结果来看,尚有许多问题待解决:限于时间和条件限制,本研究中只对 RAS 系统中较为重要的 2 个因子 ACE2 及 Ang II 进行了测定,并未对 RAS 系统中其他成员如 ACE、Apelin、Ang(1~7)等做检测,RAS 是一个相当复杂的系统,因此,CIH 相关性肺组织氧化应激损伤中 RAS 系统之间相互作用的确切机制及激活机制还需进一步研究。

参 考 文 献

- Burrell LM, Risvanis J, Kubota E, *et al.* Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart J*, 2005;26(4):369-375.
- Fulle S, Mariggio MA, Belia S, *et al.* Nerve growth factor inhibits apoptosis induced by S-100 binding in neuronal PC 12 cells. *Neuroscience*, 1997;76(1):159-166.
- Iwai M, Horiuchi M. Devil and angel in the renin-angiotensin system; ACE-angiotensin II-AT1 receptor axis vs ACE2-angiotensin-(1-7)-Mas receptor axis. *Hypertens Res*, 2009;32(7):533-536.
- Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, *et al.* Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. *Circulation*, 2008; 117(17): 2270-2278.
- Sundar KM, Daly SE. Chronic cough and OSA: an underappreciated relationship. *Lung*, 2014;192(1):21-25.
- Teodorescu M, Polomis DA, Gangnon RE, *et al.* Asthma control and its relationship with obstructive sleep apnea (OSA) in older adults. *Bras Pneumol*, 2013;39(5):604-612.
- 向永红, 苏晓丽, 贺若曦等. 不同低氧方式对大鼠血清和组织局部肾素血管紧张素系统的影响. *中华结核与呼吸杂志*, 2012;35(1):33-36.
- 冯 靖, 陈宝元, 郭美南等. 间歇低氧气体环境模型的建立. *天津医科大学学报*, 2006;12(4):509-515.
- 蔡姗姗, 周 燕. OSAHS 与氧化应激及其相关并发症的最新研究进展. *临床医学工程*, 2012;19(10):1860-1862.
- Yamauchi M, Kimura H. Oxidative stress in obstructive sleep apnea: putative pathways to the cardiovascular complications. *Antioxid Redox Signal*, 2008;10(4):755-768.
- Dandona P, Kumar V, Aljada A, *et al.* Angiotensin II receptor blocker valsartan suppresses reactive oxygen species generation in leukocytes, nuclear factor-kappa B, in mononuclear cells of normal subjects: evidence of an antiinflammatory action. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003;88(9):4496-4501.
- Crackower MA, Sarao R, Oudit GY, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature*, 2002;417(6891):822-828.
- Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, *et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*, 2004;203(2):631-637.
- Imai Y, Kuba K, Rao S, *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*, 2005; 436(7047):112-116.
- Li X, Molina-Molina M, Abdul-Hafez A, *et al.* Angiotensin converting enzyme-2 is protective but downregulated in human and experimental lung fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008;295(1):L178-L185.
- Yamazato Y, Ferreira AJ, Hong KH, *et al.* Prevention of pulmonary hypertension by angiotensin-converting enzyme 2 gene transfer. *Hypertension*, 2009;54(2):365-371.
- 向永红, 苏晓丽, 胡成平等. 慢性间歇低氧大鼠氧化应激相关途径及抗氧化剂干预效果分析. *中华结核与呼吸杂志*, 2010;33(12):912-916.
- Zhi Q, Sun H, Qian X, *et al.* Edaravone, a novel antidote against lung injury and pulmonary fibrosis induced by paraquat. *Immunopharmacol*, 2011;11(1):96-102.

(2015-04-12 收稿, 2015-09-09 修回)

编辑 沈 进