

# 诱导型一氧化氮合酶和血红素氧合酶-1在反流性食管炎患者食管黏膜中的表达

李军杰, 方红丽, 王月香, 郑勇, 孙侃, 常向云, 陈卫刚, 王晓丽, 赵瑾

李军杰, 王月香, 新疆石河子大学医学院第一附属医院老年一科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002  
方红丽, 新疆石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832008  
郑勇, 孙侃, 常向云, 陈卫刚, 王晓丽, 新疆石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832002  
赵瑾, 新疆石河子大学医学院病理科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008  
作者贡献分布: 李军杰与方红丽对此文所作贡献均等; 此课题由李军杰、郑勇、孙侃、常向云、陈卫刚及赵瑾设计; 研究过程由李军杰、王晓丽及赵瑾操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由赵瑾提供; 数据分析由李军杰、方红丽、王晓丽及赵瑾完成; 本论文写作由李军杰、方红丽、王月香及赵瑾完成。  
通讯作者: 郑勇, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市, 新疆石河子大学医学院第一附属医院消化内科。  
电话: 0993-2859284  
收稿日期: 2008-06-05 修回日期: 2008-07-18  
接受日期: 2008-07-29 在线出版日期: 2008-08-28

## Expression of inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 in the esophageal mucosa of patients with reflux esophagitis

Jun-Jie Li, Hong-Li Fang, Yue-Xiang Wang, Yong Zheng, Kan Sun, Xiang-Yun Chang, Wei-Gang Chen, Xiao-Li Wang, Jin Zhao

Jun-Jie Li, Yue-Xiang Wang, the First Cadre Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical College, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Hong-Li Fang, Shihezi University Medical College, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Yong Zheng, Kan Sun, Xiang-Yun Chang, Wei-Gang Chen, Xiao-Li Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical College, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Jin Zhao, Department of Pathology, Shihezi University Medical College, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Correspondence to: Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical College, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China.  
Received: 2008-06-05 Revised: 2008-07-18  
Accepted: 2008-07-29 Published online: 2008-08-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and heme oxygenase-1 (HO-1) in human esophageal mucosa of patients

with reflux esophagitis (RE), and to find out the role of gas messenger molecules such as nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO) in the pathogenesis of RE.

**METHODS:** The distributions of iNOS and HO-1 proteins in esophageal tissues 77 RE patients and 20 normal controls were detected by immunohistochemistry (SP method), and the relationship between iNOS and HO-1 expression was analyzed.

**RESULTS:** iNOS and HO-1 were expressed mainly in esophageal mucosal epithelia. The expression levels of iNOS and HO-1 in RE patients were significantly higher than those in the normal controls ( $0.2473 \pm 0.0548$  vs  $0.1616 \pm 0.0169$ ;  $0.2334 \pm 0.0511$  vs  $0.1776 \pm 0.0164$ ; both  $P < 0.01$ ). Moreover the expression of HO-1 was positively correlated with iNOS expression in esophageal mucosa of RE patients ( $r = 0.513$ ,  $P = 0.000$ ). There was no marked difference between iNOS and NO expression in the normal controls ( $r = -0.073$ ,  $P = 0.758$ ).

**CONCLUSION:** HO-1 and iNOS are abnormally expressed in esophageal mucosa of RE patients, suggesting that NO and CO may play important roles in the pathogenesis of gastrointestinal motility disorders such as RE.

**Key Words:** Reflux esophagitis; Inducible nitric oxide synthase; Heme oxygenase-1; Immunohistochemistry; Nitric oxide; Carbon monoxide

Li JJ, Fang HL, Wang YX, Zheng Y, Sun K, Chang XY, Chen WG, Wang XL, Zhao J. Expression of inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase-1 in the esophageal mucosa of patients with reflux esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(24): 2713-2718

## 摘要

**目的:** 研究诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和血红素氧合酶(HO-1)在反流性食管炎(RE)患者食管黏膜中的表达及两者之间的关系, 以探讨气体信使分子NO和CO在RE的发病机制中的作用。

## ■背景资料

反流性食管炎是消化系统常见的胃肠动力性疾病, 随着我国国民经济的持续发展、生活条件的提高及生活方式的改变, 我国反流性食管炎的发病率近年有增高的趋势, 临床表现为反酸、烧心、胸骨后疼痛、嗝气等, 因其反复发作, 严重影响患者的生活质量, 目前反流性食管炎确切的发病机制尚不明确, 其发病机制可能是多因素的, 研究表明胃肠激素及气体信使分子可能在反流性食管炎的发病中起重要作用。

## ■同行评议者

吕宾, 教授, 浙江中医学院附属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

## ■研究前沿

食管下括约肌松弛尤其是一过性食管下括约肌松弛的发生机制为该领域的热点问题。

**方法:** 以免疫组化SP法结合诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和血红素氧合酶(HO-1)的免疫反应阳性产物的平均吸光度图像分析法检测77例RE患者(分4级组)及20例对照组的食管黏膜中iNOS和HO-1蛋白的表达强度, 并分析两者的关系。

**结果:** iNOS和HO-1主要在食管黏膜上皮细胞中表达, RE患者食管黏膜中iNOS与HO-1的表达明显强于对照组( $0.2473 \pm 0.0548$  vs  $0.1616 \pm 0.0169$ ,  $0.2334 \pm 0.0511$  vs  $0.1776 \pm 0.0164$ , 均 $P < 0.01$ )。且RE组食管黏膜上皮细胞iNOS和HO-1蛋白表达呈显著正相关( $r = 0.513$ ,  $P = 0.000$ ); 而正常组中iNOS和HO-1蛋白表达之间无相关性( $r = -0.073$ ,  $P = 0.758$ )。

**结论:** RE患者食管黏膜中iNOS和HO-1表达异常, 表明NO和CO在RE的发病机制中可能起重要作用。

**关键词:** 反流性食管炎; 诱导型一氧化氮合酶; 血红素氧合酶-1; 免疫组织化学; 一氧化氮; 一氧化碳

李军杰, 方红丽, 王月香, 郑勇, 孙侃, 常向云, 陈卫刚, 王晓丽, 赵瑾. 诱导型一氧化氮合酶和血红素氧合酶-1在反流性食管炎患者食管黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16(24): 2713-2718

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2713.asp>

## 0 引言

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是指由于胃与食管交界处抗反流屏障功能障碍而导致的胃或十二指肠内容物反流入食管, 引起食管组织黏膜损害, 是临床常见疾病, 其发病机制尚未完全清楚。其中胃食管交界异常引发反流的机制中一过性食管下段括约肌松弛(transient lower esophageal sphincter relaxation, TLESR)是反流性食管炎的最主要发病机制<sup>[1-6]</sup>, 一些胃肠激素和气体信号分子对食管下括约肌运动有调节作用, 20世纪90年代以来, 国外逐渐有一氧化氮(nitric oxide, NO)与RE关系的研究报道; CO作为一种新的胃肠道抑制性神经递质可介导平滑肌的松弛效应, 本实验试图通过对RE患者及对照组的食管黏膜活检标本的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和血红素氧合酶1(HO-1)的表达的免疫组织化学研究, 探讨NO和CO在RE发病机制中的可能作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** (1)RE组实验对象: 2006-01/10就诊于石

河子大学医学院一附院门诊和住院患者77例, 所有患者均行胃镜检查后诊断为RE, 其中男55例, 女22例, 平均年龄 $52.08 \pm 12.61$ (22-72)岁。RE的诊断按照洛杉矶分类标准(世界胃肠病大会, 1994): 共分4级, A级: 黏膜破损局限于黏膜皱襞上, 且长度 $< 5$  mm; B级黏膜破损局限于黏膜皱襞上, 其中至少一个黏膜破损长度 $> 5$  mm; C级: 黏膜破损相互融合, 但小于食管周径75%; D级: 黏膜破损相互融合, 至少侵犯食管周径75%以上, 食管下端溃疡也列入D级。77例RE者中, A-D级分别为21例、25例、18例和13例。将A、B级定为轻度RE, C级为中度, D级为重度RE。RE患者均有一种或以上不同程度的反流症状, 如反酸、烧心、反食、胸骨后疼痛, 部分患者还伴有腹胀、嗝气、吞咽困难等, 既往有糖尿病、神经性病变、硬皮病、恶性肿瘤、上消化道手术史等病史者除外; (2)对照组: 20例对照组标本取自正常志愿者, 其中男13例, 女7例, 平均年龄 $47.75 \pm 12.79$ (23-66)岁。本组无临床上无反酸、烧心、反食、胸骨后疼痛等反流的症状与体征, 无免疫疾病、感染病史, 无近期服用药物史, 内镜下无食管黏膜破损, 食管黏膜病理检查证实, 食管黏膜组织无器质性病变。对照组、A-D组均在电子胃镜(Olympus)直视下, 于食管下括约肌(齿状线上2 cm)病损处活检取黏膜, 立即以40 g/L多聚甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋, 3  $\mu$ m连续切片, 进行免疫组织化学染色。正常对照组同部位取材, 做相同处理。RE各组患者的年龄与对照组年龄比较无显著性差异, 用LSD对各组年龄进行两两比较, 结果均无统计学意义( $P > 0.05$ )。用SPSS软件对所有入选者的性别进行 $\chi^2$ 检验, 检验结果表明,  $\chi^2 = 1.391$ ,  $P = 0.846$ , 可以认为入选的对照组、A、B、C、D组在性别方面无统计学差异, 所有实验数据无性别偏差; (3)实验试剂: 羊抗人HO-1多克隆抗体IgG(Santa Cruz公司产品, 福州迈新生物技术开发公司提供), 二抗工作液(Santa Cruz公司产品, 北京中杉金桥生物科技有限公司提供), 兔抗人iNOS多克隆抗体IgG(Santa Cruz公司产品, 北京中杉金桥生物科技有限公司提供); DAB显色液(DAKO公司产品, 福州迈新生物技术开发公司提供)。生物素化二抗及辣根过氧化物酶标志链霉卵白素工作液三抗(福州迈新生物技术开发公司提供)。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色:** 石蜡组织切片经脱蜡、脱二甲苯和水化后, 3%  $H_2O_2$ -甲醇液孵育

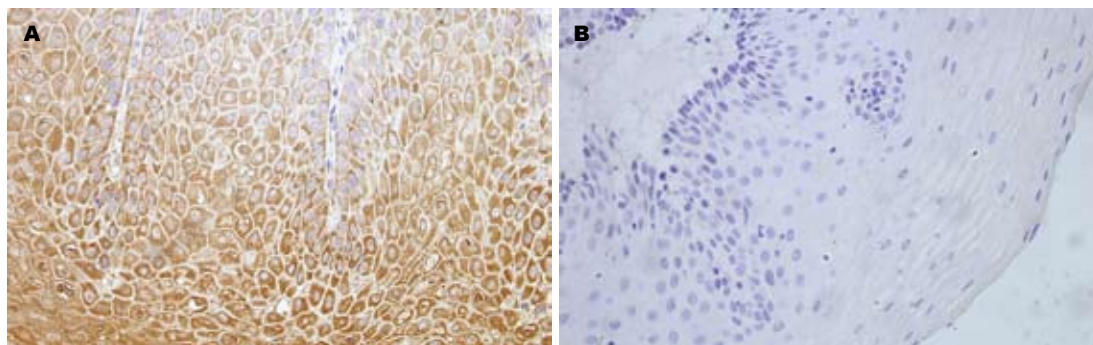


图1 食管黏膜iNOS的表达( $\times 400$ ). A: 反流性食管炎患者; B: 对照组.

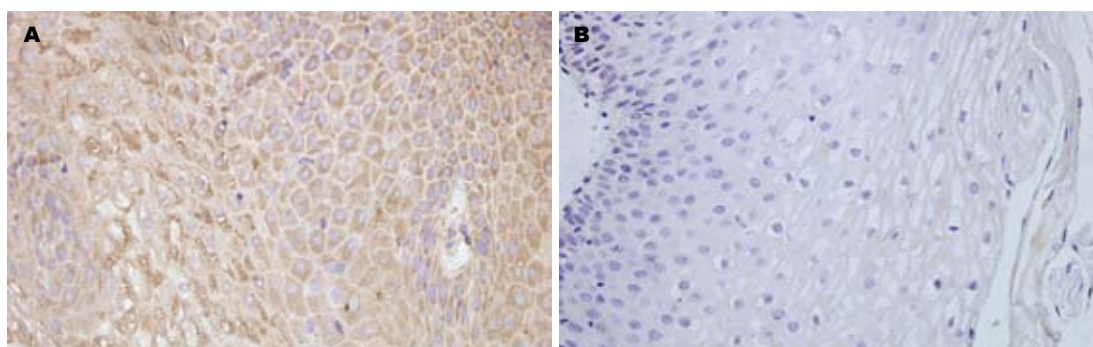


图2 食管黏膜HO-1的表达( $\times 400$ ). A: 反流性食管炎患者; B: 对照组.

10 min, 以阻断内源性过氧化物酶, 水化后置0.01 mol/L枸橼酸缓冲液中微波95℃ 15 min进行修复抗原, 加免疫性动物血清(或正常兔血清工作液(A液))孵育10 min, 然后滴加1:150稀释的一抗(兔抗人多克隆抗体iNOS)(或1:100稀释的一抗(羊抗人多克隆抗体HO-1), 4℃过夜, 滴加生物素标志的抗IgG抗体(或生物素化兔抗山羊二抗工作液(B液))和辣根过氧化物酶标志链霉卵白素工作液(C液)孵育30 min, 加新鲜配制的DAB液显色, 苏木精复染, 然后脱水、透明、中性树脂封片, 光镜下观察并摄片. 上述抗体稀释和组织切片漂洗均用0.01 mol/L、pH7.4的磷酸盐缓冲溶液(TBS), 同时用TBS代替一抗作阴性对照.

1.2.2 免疫组织化学结果判断: 光镜下观察, HO-1及iNOS免疫阳性产物呈棕黄色颗粒为强阳性, 黄色颗粒为阳性, 浅黄色颗粒为弱阳性, 与背景同色呈蓝紫色为阴性. 同时用计算机图像分析技术半定量监测其蛋白表达的强弱. 应用Image-Pro<sup>®</sup> Plus5.0彩色病理图文分析系统(美国Media Cybernetics公司)随机选取5个视野, 测定食管黏膜iNOS和HO-1免疫反应阳性产物平均吸光度值. 平均吸光度越高说明表达越强, 反映细胞内蛋白表达量越多. 以平均吸光度值来进行量化

后的统计学分析.

**统计学处理** 所有参数均采用SPSS11.0 for Windows统计软件分析处理, 测量指标以mean $\pm$ SD表示, 确定方差齐性后, 方差分析用于分析组间均数差别,  $P<0.05$ 表示两组差别具有显著性意义. 对RE组iNOS和HO-1表达水平采用Spearman相关检验作相关性分析, 相关系数以 $r$ 表示,  $r>0.5$ 表示两者成正相关.

## 2 结果

2.1 HO-1和iNOS免疫组化染色结果 RE组HO-1和iNOS蛋白主要在食管黏膜上皮细胞中表达, 密集分布, 胞质呈黄色至棕黄颗粒, iNOS在细胞核中也有少量表达. 正常对照组, 大多样本没有HO-1和iNOS阳性细胞的表达, 少数病例在食管黏膜上皮细胞中表达, 胞质呈浅黄色(图1-2).

2.2 食管黏膜组织中HO-1和iNOS的表达强度 iNOS和HO-1平均吸光度值: RE组中A组与B组的平均吸光度比值无差异( $P=0.260$ 和 $P=0.867$ ), 但A-B组与对照组比值均有差异( $P<0.01$ ), C-D组与对照组和A-B组比值均有差异( $P<0.01$ ), C-D组的之间平均平均吸光度比值均有差异( $P<0.01$ ). 且总RE组和对照组的iNOS平均平均吸光度值分别为 $0.2473\pm 0.0548$

### ■ 相关报道

1999年潘国宗 *et al*流行病学调查显示, 北京、上海的流行病学调查推测RE患病率为1.92%; 2005年李兆申 *et al*对RE的调查显示, 1990-1999年RE占内镜检查总数的2.02%, 而2000-2004年RE的比率上升至5.11%.



## ■应用要点

一过性食管下括约肌松弛是公认的反流性食管炎的最重要的发病机制, 本研究显示一些气体信使分子如一氧化氮、一氧化碳可能在反流性食管炎发病机制中起重要作用, 通过对其进一步的深入研究将有助于阐明反流性食管炎的病理生理机制, 为反流性食管炎的诊疗提供新方案、新策略。

表 1 RE各组与对照组平均吸光度

分组	iNOS	HO-1
A级组	0.2048 ± 0.0217	0.2085 ± 0.03070
B级组	0.2124 ± 0.0233	0.2101 ± 0.03197
C级组	0.2835 ± 0.0224	0.2380 ± 0.03215
D级组	0.3329 ± 0.0290	0.3123 ± 0.0500
对照组	0.1616 ± 0.0169	0.1776 ± 0.0164

和0.1616 ± 0.0169, 总RE组患者iNOS的平均吸光度值明显高于对照组( $P < 0.01$ , 表1-2); 总RE组HO-1与对对照组平均吸光度值分别为0.2334 ± 0.0511和0.1776 ± 0.0164, 总RE组患者HO-1的平均吸光度值明显高于对照组( $P < 0.01$ , 表1-2). iNOS和HO-1的关系: 对iNOS和HO-1RE各组平均平均吸光度值通过单样本K-S(Kolmogorov-Smirnov)检验, 采用Spearman相关检验,  $r = 0.513$ ,  $P = 0.000$ , 表明RE组食管黏膜上皮细胞iNOS和HO-1蛋白表达呈显著正相关; 而正常组  $r = -0.073$ ,  $P = 0.758$ , 正常组中iNOS和HO-1蛋白表达之间无相关性( $r = -0.073$ ,  $P = 0.758$ ).

## 3 讨论

RE在西方国家是一种常见病和多发病, 约25%的成年人有烧心症状<sup>[7]</sup>. 1999年潘国宗 *et al* 流行病学调查示, 北京、上海的流行病学调查推测RE患病率为1.92%<sup>[8]</sup>; 2005年李兆申 *et al* 对RE的调查显示, 1990-1999年RE占内镜检查总数的2.02%, 而2000-2004年RE的比率上升至5.11%<sup>[9]</sup>. 国内外学者对其日益关注, 研究不断深入, 但其确切的病因及发病机制仍不十分清楚. 目前已公认TLESR是导致RE的最重要因素, 食管下括约肌(LES)组织内的NO对维持其一定的张力起着重要作用. 张力下降可导致TLESR频繁发生. 有学者发现试验性RE动物模型和人食管黏膜组织中NO含量显著高于对照组<sup>[10-11]</sup>.

近年来的研究证实NO为肠神经系统中非肾上腺素能、NANC的主要抑制性神经递质, 食管上段横纹肌主要受胆碱能神经支配, 而食管下段环形平滑肌主要受非肾上腺素能、非胆碱能神经(NANC)支配, NO由NOS介导生成产生, NOS是NO合成过程中唯一限速酶, 其活性变化直接调节NO的生成量及其生物学效应. NOS分为3种同工酶: 神经源性NOS(nNOS)、内皮细胞性NOS(eNOS)和诱生型NOS(iNOS), 其中神经源性和内皮细胞性NOS合称原生型NOS(cNOS), 其生物活性依赖于Ca<sup>2+</sup>和钙调蛋白, 由其产生的

表 2 总RE与对照组平均吸光度比较

分组	iNOS	HO-1
总RE组	0.2473 ± 0.05481 <sup>b</sup>	0.2334 ± 0.05112 <sup>b</sup>
对照组	0.1616 ± 0.0169	0.1776 ± 0.0164

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

NO主要起神经递质和第二信使作用, 而iNOS主要存在于血管平滑肌细胞、巨噬细胞, 其生物活性不依赖Ca<sup>2+</sup>和钙调蛋白, 生成的NO具有细胞毒作用, 参与介导免疫反应, 可引起细胞和组织的损伤. 一般认为iNOS在正常状态下不表达, 需细胞因子等刺激后才会诱导性表达, 产生的NO而介导后继的效应. 目前普遍认为iNOS的高表达是导致食管黏膜损伤的重要因素<sup>[12]</sup>. 在实验中我们发现, RE患者食管组织中iNOS分布和表达异常, 较正常对照组其阳性单位明显增高, 说明iNOS阳性细胞数目增多, 着色加深, 且以黏膜上皮为著; 这些提示, RE患者食管iNOS的分布和表达异常可能引起食管组织内、细胞内和细胞间NO分布及量的改变, 引起食管平滑肌的收缩和舒张障碍. 本研究结果还表明, RE患者食管黏膜中iNOS表达增强, 同时随着食管病变程度的加重而进行性加重, 进一步说明在RE发生发展中, NO可能是导致食管黏膜损伤的主要机制之一. 现已证实NO作为支配LES神经中抑制性神经肽能神经递质能引起LES松弛, 其机制<sup>[13]</sup>: 目前认为一方面NO可能是TLESR的启动因子, 激活鸟苷环化酶, 使环磷鸟苷增加, 降低细胞内钙离子浓度或对钙离子的敏感性, 引起肌肉松弛, 从而使LES松弛; 另一方面使依赖cGMP的蛋白激酶活性上升, 促使蛋白磷酸化使肌肉松弛, 从而使LES松弛; 此外NO又是一种炎性递质, 可与超氧化物反应产生过氧化亚硝酸盐(PXN), PXN可加速脂类和巯基化合物的氧化反应, 引起食管急慢性炎症反应, 造成食管黏膜的损伤.

内源性CO和NO类似, 是近年研究证实的重要的生物调节物质, 具有传递细胞间信息、调节细胞功能的作用, 因而作为体内合成内源性CO的唯一酶系统-HO也日益受到关注. 血红素氧合酶是一种催化血红素分解代谢的起始酶和限速酶, 能将血液中的血红素降解, 产生等摩尔的CO、亚铁离子(Fe<sup>2+</sup>)和胆绿素, 后者在胆绿素还原酶的作用下迅速生成胆红素. 目前已证实HO有3种同工酶: HO-1、HO-2、HO-3, HO-1

为诱导型, 又被称为热休克蛋白(HSP32)主要分布于单核-巨噬细胞系统及网状内皮细胞内, 参与血红素代谢, HO-1可被血红素、金属元素、氧化应激、细菌内毒素等因素诱导激活下均可表达并产生CO. HO-2和HO-3为结构型, 在细胞处于生理状态即有表达. 正常生理状态下除脾脏外, 健康胃肠道极少表达HO-1<sup>[14]</sup>, 当胃肠病变/损伤时, HO-1大量诱导产生, 有利于病变/损伤的修复. 有研究发现, HO-1对动物结肠黏膜上皮细胞具有保护作用<sup>[15-16]</sup>. 大量研究表明, 氧化损伤作为应激因素对HO-1具有明显的诱导作用, HO-1通过抗氧化应激等途径对多种疾病具有保护作用. 然而, HO-1在人类食管组织中的分布和作用尚不清楚, 在RE患者食管组织中的表达还未见相关报道. HO-1具有抗炎症、抗凋亡、抗增生作用<sup>[17-19]</sup>, 可在应激或损伤条件下诱导产生CO, CO是一种弥散的气体信使分子, 可以传递生理学信息, 在HO-1的保护作用中可能起重要作用. 新近研究发现, CO可以调节肠道平滑肌的电活动, 外源性CO能刺激犬空肠环行平滑肌细胞内cGMP生成, 激活平滑肌细胞的K<sup>+</sup>通道, 增加整个细胞的外向电流, 引起膜电位超极化, 舒张平滑肌HO基因缺失可引起平滑肌持续痉挛, 外源性CO则能恢复平滑肌的正常反应<sup>[20-21]</sup>. 在本实验中我们发现, RE患者食管组织中HO-1分布和代谢异常, 较正常对照组阳性单位增高, 他的表达与iNOS相似, 主要定位在食管黏膜上皮细胞, 这提示, RE患者食管HO-1的分布和表达异常可能引起食管组织内、细胞内分布和量的改变, 影响胃肠道的生理信息传递, 出现异常的平滑肌细胞膜电位, 引起胃肠道平滑肌的收缩、舒张障碍. 研究表明, CO也是胃肠道的信使, 可通过可溶性鸟苷酸环化酶-环磷酸鸟苷(sGC-cGMP)通过胞内肌浆网钙离子的释放, 使平滑肌细胞舒张, 肌肉松弛, 可以调节食管功能. 我们的研究显示, 随着食管炎症程度的加重, HO-1阳性细胞及其蛋白表达呈一致性增强, 从而发挥自身保护效应, 推测 HO-1在食管损伤发生时作为一种代偿性机制具有一定保护作用.

iNOS和HO-1在胃肠道内分布广泛, 他们的产物NO和CO是近年发现的生物活性物质, 具有传递生物信息等多种生物学功能, 可以协同传递, 而且NO/NOS和CO/HO有交互作用. 已有报道, 在多种组织或培养的细胞中NO能诱导HO-1 mRNA和蛋白的表达; 依赖于NO的平滑肌松弛反应与CO有关, CO可增加肠道平滑肌对NO作

用的敏感性, 在CO缺失下NO并不能发挥效应; iNOS可促成溃疡形成, HO-1则可使溃疡愈合<sup>[22]</sup>, 细胞外信号调节激酶的活化通过iNOS可引起细胞死亡, HO-1则可以保护细胞. 最近研究表明, 应激或损伤诱导HO-1的表达可清除自由基, 抑制iNOS表达, 保护肠道免受多种类型的损伤<sup>[23-30]</sup>. 在实验中我们还发现RE患者食管组织中iNOS和HO-1的表达呈正相关, 这提示HO-1可能是机体对iNOS损害产生保护反应的一种反馈因素. RE患者食管组织中iNOS和HO-1的分布和表达异常, 引起NO和CO含量的增加, 食管的信息传递和平滑肌细胞膜电位发生异常, 造成了正常兴奋与抑制的失衡, 食管运动功能紊乱, 引起胃肠动力和食管感觉敏感性的异常, 出现反酸、烧心、胸骨后疼痛等临床症状, 胃肠道产生的NO和CO都是胃肠运动的调节剂, 在食管的运动中很可能彼此互相调节; RE患者食管组织中iNOS和HO-1的表达异常引起NO和CO的调节功能失调可能是食管损伤反应的重要因素, 而且可能与RE的发病机制密切相关.

总之, 本实验发现了iNOS和HO-1在RE患者食管组织中的分布, iNOS/NO和HO-1/CO都参与食管的功能调节, 他们的异常表达与食管的功能失调有关, 并初步探讨了NO和CO在RE发病机制中的可能作用. 无疑, NO和CO是消化系重要的信使分子, 在食管运动的调节中起着重要作用, 对胃肠道疾病的病理生理可能有重要影响, 这或许有助于我们从新的角度理解胃肠功能性疾病. 但胃肠道功能受诸多因素调节, 食管的神经体液支配、胃肠激素的调节和他们之间的相互调控也十分复杂, 仅根据其中几种信息物质的变化来解释RE的发病机制还很不全面, 有关iNOS和HO-1与胃肠道的生理及病理生理关系, NO和CO在消化系信息传递中的作用及相互关系值得进一步深入研究.

#### 4 参考文献

- 1 Orlando RC. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 584-588
- 2 Babaei A, Bhargava V, Korsapati H, Zheng WH, Mittal RK. A unique longitudinal muscle contraction pattern associated with transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 2008; 134: 1322-1331
- 3 Elakkary E, Duffy A, Roberts K, Bell R. Recent advances in the surgical treatment of achalasia and gastroesophageal reflux disease. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 603-609
- 4 Dent J. Pathogenesis of gastro-oesophageal reflux disease and novel options for its therapy.

#### ■同行评价

本文探讨了气体信使分子一氧化氮和一氧化碳在反流性食管炎发病机制中可能的作用, 方法可靠, 结果可信, 有一定意义.

- Neurogastroenterol Motil* 2008; 20 Suppl 1: 91-102
- 5 Beaumont H, Jonsson-Rylander AC, Carlsson K, Pierrou S, Ahlefeldt M, Branden L, Jensen J, Boeckxstaens GE, Lehmann A. The role of GABA(A) receptors in the control of transient lower oesophageal sphincter relaxations in the dog. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1195-1202
  - 6 Bredenoord AJ, Draaisma WA, Weusten BL, Gooszen HG, Smout AJ. Mechanisms of acid, weakly acidic and gas reflux after anti-reflux surgery. *Gut* 2008; 57: 161-166
  - 7 Louis E, DeLooze D, Deprez P, Hiele M, Urbain D, Pelckmans P, Deviere J, Deltenre M. Heartburn in Belgium: prevalence, impact on daily life, and utilization of medical resources. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 279-284
  - 8 潘国宗, 许国铭, 郭惠平, 柯美云, 韩少梅, 李兆申, 方秀才, 邹多武, 鲁素彩, 刘婧. 北京上海胃食管反流的流病学的流行病学调查. *中华消化杂志* 1999; 19: 223-226
  - 9 李兆申, 徐晓蓉, 许国铭, 邹多武, 孙振兴, 王雯, 叶萍, 陆建萍. 反流性食管炎的临床特征分析. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 315-318
  - 10 王薇, 付亮, 高欣, 李铭, 许乐. 胆汁反流于食管下端括约肌组织中一氧化氮及血管活性肠肽的关系. *中国综合临床* 2005; 21: 134-136
  - 11 马淑颖, 朱生梁, 程艳梅, 程艳梅, 孙永顺, 张文静, 孙曼萍, 黄雨稼. 疏肝和胃方对混合反流性食管炎大鼠一氧化氮合酶和血管活性肠肽的影响. *山西中医* 2006; 22: 48-50
  - 12 Lanás AI, Blas JM, Ortego J, Soria J, Soinz R. Adaptation of esophageal mucosa to acid- and pepsin-induced damage: role of nitric oxide and epidermal growth factor. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 1003-1012
  - 13 朱晓燕, 林培茂. 胃食管反流病中一氧化氮、血管活性肠肽对食管的作用. *中华现代中西医杂志* 2003; 2: 109-111
  - 14 Miller SM, Reed D, Sarr MG, Farrugia G, Szurszewski JH. Haem oxygenase in enteric nervous system of human stomach and jejunum and co-localization with nitric oxide synthase. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 121-131
  - 15 Murthy S, Flanigan A, Coppola D, Buelow R. RDP58, a locally active TNF inhibitor, is effective in the dextran sulphate mouse model of chronic colitis. *Inflamm Res* 2002; 51: 522-531
  - 16 Berberat PO, A-Rahim YI, Yamashita K, Warny MM, Csizmadia E, Robson SC, Bach FH. Heme oxygenase-1-generated biliverdin ameliorates experimental murine colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 350-359
  - 17 Nakao A, Kaczorowski DJ, Sugimoto R, Billiar TR, McCurry KR. Application of heme oxygenase-1, carbon monoxide and biliverdin for the prevention of intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 42: 78-88
  - 18 Pachori AS, Smith A, McDonald P, Zhang L, Dzau VJ, Melo LG. Heme-oxygenase-1-induced protection against hypoxia/reoxygenation is dependent on biliverdin reductase and its interaction with PI3K/Akt pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 43: 580-592
  - 19 Pae HO, Oh GS, Choi BM, Chae SC, Kim YM, Chung KR, Chung HT. Carbon monoxide produced by heme oxygenase-1 suppresses T cell proliferation via inhibition of IL-2 production. *J Immunol* 2004; 172: 4744-4751
  - 20 Farrugia G, Miller SM, Rich A, Liu X, Maines MD, Rae JL, Szurszewski JH. Distribution of heme oxygenase and effects of exogenous carbon monoxide in canine jejunum. *Am J Physiol* 1998; 274: G350-G358
  - 21 Xue L, Farrugia G, Miller SM, Ferris CD, Snyder SH, Szurszewski JH. Carbon monoxide and nitric oxide as coneurotransmitters in the enteric nervous system: evidence from genomic deletion of biosynthetic enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 1851-1855
  - 22 Guo JS, Cho CH, Wang WP, Shen XZ, Cheng CL, Koo MW. Expression and activities of three inducible enzymes in the healing of gastric ulcers in rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1767-1771
  - 23 Chen M, Bao W, Aizman R, Huang P, Aspevall O, Gustafsson LE, Ceccatelli S, Celsi G. Activation of extracellular signal-regulated kinase mediates apoptosis induced by uropathogenic *Escherichia coli* toxins via nitric oxide synthase: protective role of heme oxygenase-1. *J Infect Dis* 2004; 190: 127-135
  - 24 Wang WP, Guo X, Koo MW, Wong BC, Lam SK, Ye YN, Cho CH. Protective role of heme oxygenase-1 on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G586-G594
  - 25 Tamion F, Richard V, Renet S, Thuillez C. Protective effects of heme-oxygenase expression against endotoxic shock: inhibition of tumor necrosis factor- $\alpha$  and augmentation of interleukin-10. *J Trauma* 2006; 61: 1078-1084
  - 26 王启志, 章明, 朱有法, 张梅, 高敏, 潘剑威, 任天荣. 诱导型一氧化氮合酶与血红素氧合酶在人肠易激综合征结肠中的表达. *解剖学报* 2005; 36: 68-72
  - 27 朱曙光, 郑勇, 孔维, 陈莹. 诱导型血红素氧合酶在腹泻型肠易激综合征患者中的表达. *石河子大学学报(自然版)* 2005; 23: 711-714
  - 28 章明, 王启志, 高敏, 朱有法, 赵冬久. 诱导型血红素氧合酶-1在溃疡性结肠炎结肠中的表达. *浙江医学* 2005; 27: 896-698
  - 29 姜柳琴, 林琳. 血红素氧合酶/一氧化碳体系在胃肠道的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1612-1616
  - 30 Inoue K, Takahashi T, Uehara K, Shimizu H, Ido K, Morimatsu H, Omori E, Katayama H, Akagi R, Morita K. Protective role of heme oxygenase 1 in the intestinal tissue injury in hemorrhagic shock in rats. *Shock* 2008; 29: 252-261

编辑 李军亮 电编 何基才