内源性一氧化氮与一氧化碳在大鼠低氧性肺动脉高压发病中的相互作用

石 云^① 杜军保^{①*} 郭志良^① 曾超美^② 唐朝枢^③

(北京大学^①第一医院儿科, 北京 100034; ^②人民医院儿科, 北京 100044; ^③第一医院心血管病研究所, 北京 100083.

*联系人, E-mail: junbaodu@ht.rol.cn.net)

摘要 研究一氧化氮合酶(nitric oxygenase, NOS)/一氧化氮(nitric oxide, NO)系统和血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)/一氧化碳(carbon monoxide, CO)系统在低氧性肺动脉高压发生机制中的作用及其相互关系. 采用大鼠低氧性肺动脉高压模型, 分别观察 HO 抑制剂锌原卟啉-9(zinc protoporphyrin IX, ZnPP-IX)对肺动脉压力、体内 CO 含量、NO 含量、NOS 表达的影响, 以及 NOS 抑制剂 N^ω-硝基-L-精氨酸甲酯(N^ω-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)对肺动脉压力、体内 NO 含量、CO 含量、HO-1 表达的影响. 结果显示随低氧性肺动脉高压的形成, 肺组织匀浆 NO 含量及各级肺动脉内皮细胞 eNOS 表达较对照组降低; ZnPP-IX 的干预明显降低了体内 CO 含量, 此时低氧大鼠肺动脉压力较单纯低氧时更为显著, 而肺组织匀浆 NO 含量及各级肺动脉内皮细胞 eNOS 表达较低氧组明显增加(*P* 均 < 0.01). 低氧性肺动脉高压形成时大鼠肺组织匀浆 CO 含量及各级肺动脉平滑肌细胞 HO-1 表达较对照组增加; L-NAME 的应用明显减少了体内 NO 含量, 此时低氧大鼠肺动脉压力较单纯低氧时更为显著, 而肺组织匀浆 CO 含量及各级肺动脉平滑肌细胞 HO-1 表达与低氧组相比明显降低(*P* 均 < 0.01). 结果揭示内源性 NOS/NO 与 HO/CO 系统既相对独立又相互作用, 以网络调节的方式共同参与低氧性肺动脉高压形成的调控机制.

关键词 一氧化氮 一氧化碳 低氧 肺动脉高压

低氧性肺动脉高压是临床众多心肺疾病发生发展过程中重要的病理生理环节, 严重影响疾病的进展及预后, 阐明其发病机理是当今该领域亟待解决的重要课题^[1]. 内源性气体信号分子一氧化氮(nitric oxide, NO)和一氧化碳(carbon monoxide, CO)的发现, 将低氧性肺动脉高压的机制研究带入一个全新的阶段. 我们以往的研究证实, 增加体内 NO 含量可预防低氧性肺动脉高压及肺血管结构重建的发生^[2,3]; 最近实验发现, 应用 HO-1 抑制剂可明显加重低氧大鼠肺动脉压力^[4-6]及肺血管结构重建, 揭示 CO 对低氧性肺动脉高压形成也具有积极的调节作用. NO 和 CO 都是小分子气体, 能自由通过各种生物膜, 并具有持续产生、传播迅速、弥散性强和作用广泛的特点, 而二者在血管组织又分别来自内皮细胞和平滑肌细胞等不同类型的细胞, 在病理生理状态下发挥着或迅速或缓慢的生物学功能. 那么心肺血管系统是否存在由气体分子 NO 与 CO 构成的一种信号调节网络? 细胞-细胞(内皮细胞-平滑肌细胞)之间是否存在由

NO-CO 信号网络所联结的一条快速、安全的生物学通路? 这一生物学通路是否在低氧性肺动脉高压形成机制中具有重要作用? 基于以上问题, 我们将 HO-1 抑制剂锌原卟啉(Zinc protoporphyrin-IX, ZnPP-IX)和 NOS 抑制剂 N^ω-硝基-L-精氨酸甲酯(N^ω-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)分别应用于慢性低氧大鼠, 观察肺循环内源性 NOS/NO 和 HO/CO 系统的相应变化, 以探讨两系统在低氧性肺动脉高压发生机制中的相互作用及其意义.

1 材料与方法

(i) 动物分组及低氧实验. 雄性 Wistar 大鼠均由北京大学医学部动物中心提供. 第 1 批 20 只, 随机分为对照组(*n* = 7)、低氧组(*n* = 7)、低氧 + ZnPP-IX 组(*n* = 6). 第 2 批 21 只, 随机分为对照组(*n* = 7)、低氧组(*n* = 7)、低氧 + L-NAME 组(*n* = 7). 每天低氧前 0.5 h 予低氧 + ZnPP-IX 组大鼠腹腔注射 ZnPP-IX (45 μmol/kg)^[6,7], 低氧 + L-NAME 组大鼠腹腔注射

L-NAME (5 mg/kg)^[8]; 对照组及低氧组大鼠腹腔注射相同容积的生理盐水. 将低氧各组大鼠置于常压低氧舱(自制)内, 保持舱内氧浓度($10.0 \pm 0.5\%$), 用无水氯化钙吸收水分, 钠石灰吸收二氧化碳. 每天连续低氧 6 h, 共低氧 2 周. 6 组大鼠的常规饲养及饮食条件相同.

(ii) 肺动脉压力测定及标本制备. 低氧实验结束后, 将大鼠腹腔注射 10%氨基甲酸乙酯(0.1 mL/kg)麻醉, 固定于手术台上, 采用右心导管法测定肺动脉平均压(mean pulmonary artery pressure, mPAP). 而后打开胸腔, 取一侧肺叶以 10%甲醛缓冲液固定, 梯度乙醇顺序脱水, 二甲苯透明后石蜡包埋切片(厚 5 μm), 用于免疫组织化学分析. 另一侧肺叶经液氮速冻后 -70°C 保存, 制备肺组织匀浆.

(iii) 肺组织 NO 含量的间接测定——硝酸还原酶测定法. 因 NO 化学性质活泼, 半衰期极短, 迅速与分子氧反应生成 NO_2^- 和 NO_3^- , 故以血浆 NO_3^- , NO_2^- 浓度之和($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$)反应 NO 的相对含量. 应用 Biotinge-Tech 公司(北京)提供的 NO 测定试剂盒, 采用硝酸还原酶特异性地将 NO_3^- 还原为 NO_2^- , NO_2^- 与显色剂亚乙烯二胺作用, 生成粉红偶氮化合物, 通过比色测出 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量.

(iv) 肺组织 CO 含量的间接测定^[4]——双波长分光光度法. 根据碳氧血红蛋白(HbCO)和氧合血红蛋白(HbO_2)吸收光谱的差异, 选择 HbCO 吸光度之差最大而 HbO_2 吸光度之差为零的两个波长(568 和 581 nm), 测定血浆和肺组织匀浆在这两个波长下的吸光度之差(ΔA), 而后根据由标准曲线得出的公式, 间接推算出大鼠肺组织匀浆中 CO 的含量.

(v) eNOS 及 HO-1 的免疫组织化学检测. 检测第 1 批大鼠肺动脉内皮细胞 eNOS 表达. 肺组织石蜡切片经常规脱蜡水化, 3% H_2O_2 消除内源性过氧化酶 1 h, 微波法抗原修复 10 min, 血清封闭 1 h, 滴加一抗(eNOS 多克隆抗体, Boster 生物技术公司, 稀释度 1 : 100), 4°C 过夜. 顺序滴加二抗(生物素化羊抗兔 IgG), 三抗(辣根链霉卵白素), 分别 37°C 孵育 0.5 h. DAB(3,3' Diaminobenzidine, 二氨基联苯胺)显色, 苏木精复染. 阴性对照以血清代替一抗, 其余步骤相同. 光学显微镜下, 细胞质呈棕黄色为阳性信号.

半定量积分分析^[9]: 根据肺内动脉的外径将其分为大型肺动脉($> 150 \mu\text{m}$)、中型肺动脉($50 \sim 150 \mu\text{m}$)和小型肺动脉($15 \sim 50 \mu\text{m}$). 每份标本中各级肺动脉至少检测 6 ~ 10 条, 分别判定每条肺动脉内皮细胞 eNOS 阳性表达的百分比. 将 eNOS 表达强度分为 5 级: -, +, ++, +++和++++分别代表肺动脉中 0%, $\approx 25\%$, $\approx 50\%$, $\approx 75\%$ 和 $\approx 100\%$ 的内皮细胞呈现阳性表达. 为便于理解, 将肺动脉内皮细胞中 eNOS 含量用积分值表示, 即以 eNOS 不同表达强度的肺动脉百分比乘以反应强度加权值(-, +, ++, +++和++++的反应强度加权值分别为 0, 25, 50, 75 和 100).

检测第 2 批大鼠肺动脉平滑肌细胞 HO-1 表达. 方法同上(一抗为 HO-1 多克隆抗体, 加拿大 StressGen 公司, 稀释度 1 : 100).

(vi) 统计处理. 应用 SPSS10.0 统计软件包, 实验结果以均数 $\pm$ 标准差表示. 多组间比较采用单因素方差分析(F 检验)及 q 检验.

2 结果

2.1 ZnPP-IX对肺动脉压力及内源性 NOS/NO 的影响(表 1)

(i) ZnPP-IX对肺动脉压力的影响. 肺动脉压力在 3 组大鼠之间差异具有显著性($P < 0.01$). 低氧 2 周大鼠肺动脉压力较对照组增加 32.77%; 低氧 + ZnPP-IX组大鼠肺动脉压力较对照组和低氧组分别增加 56.91%和 18.18%(P 均 < 0.01).

(ii) ZnPP-IX对体内 CO 含量的影响. 血浆 CO 含量在 3 组大鼠之间差异具有显著性($F = 21.74$, $P < 0.01$). 低氧组大鼠血浆 CO 含量较对照组增加 36.24% ($P < 0.01$); 低氧 + ZnPP-IX组大鼠血浆 CO 含量较低氧组减少 21.15% ($P < 0.01$), 而与对照组相比无显著差异($P > 0.05$).

(iii) ZnPP-IX对体内 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量的影响. 肺组织匀浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量在 3 组大鼠间差异具有显著性($P < 0.001$). 低氧组肺组织匀浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量较对照组降低 18.68%; 而低氧 + ZnPP-IX组大鼠肺组织匀浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量较低氧组增加 14.30% (P 均 < 0.01).

(iv) ZnPP-IX对肺动脉 eNOS 表达的影响(图 1).

表 1 ZnPP-IX 对低氧大鼠肺动脉压力及内源性 NOS/NO 的影响($\bar{x} \pm s$)^{a)}

组别	数量/只	肺动脉平均压/Pa	血浆 CO / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	肺组织 NO_3^- 和 NO_2^- / $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	内皮细胞 eNOS 表达积分值		
					大型肺动脉	中型肺动脉	小型肺动脉
低氧组	7	$2.93 \pm 0.31^*$	$3.12 \pm 0.16^*$	$39.31 \pm 3.45^*$	$24.4 \pm 2.2^*$	$27.4 \pm 2.4^*$	$31.9 \pm 3.2^*$
低氧+ ZnPP-IX 组	6	$3.46 \pm 0.34^{*\Delta}$	$2.46 \pm 0.06^{*\Delta}$	$44.93 \pm 3.48^\Delta$	$40.0 \pm 2.0^\Delta$	$39.8 \pm 1.9^\Delta$	$44.0 \pm 4.8^\Delta$
对照组	7	2.20 ± 0.33	2.29 ± 0.16	48.34 ± 4.84	39.0 ± 2.9	41.4 ± 1.7	46.7 ± 2.3

a) * 示 $P < 0.01$ (与对照组比较), Δ 示 $P < 0.01$ (与低氧组比较)

图 1 CO 对低氧性肺动脉高压大鼠肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白表达的影响

(a) 对照组大鼠小型肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白表达, (b) 低氧组大鼠小型肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白表达较对照组明显减少, (c) 低氧 + ZnPP-IX 组大鼠小型肺动脉内皮细胞 eNOS 蛋白表达较低氧组增多。

DAB 显色, $\times 400$ <http://engine.scichina.com/doi/10.1360/9392002-47-20-1864>

三级肺内动脉内皮细胞 eNOS 蛋白表达在 3 组大鼠间差异具有显著性($P < 0.001$)。其中低氧组大鼠大、中、小三级肺动脉内皮细胞 eNOS 表达积分值均较对照组明显减少;低氧 + ZnPP-IX 组大鼠肺动脉内皮细胞 eNOS 表达积分值较低氧组又显著增加(P 均 < 0.01)。

2.2 L-NAME 对肺动脉压力及内源性 HO/CO 的影响(表 2)

(i) L-NAME 对肺动脉压力的影响。肺动脉压力在 3 组大鼠之间差异具有显著性($P < 0.01$)。低氧 2 周大鼠肺动脉压力较对照组增加 32.25%;低氧 + L-NAME 组大鼠肺动脉压力较对照组和低氧组分别增加 51.27%和 14.38%(P 均 < 0.01)。

(ii) L-NAME 对体内 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量的影响。血浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量在 3 组大鼠之间差异具有显著性($F = 21.74, P < 0.01$)。低氧组大鼠血浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量较对照组增加 12.63%($P < 0.01$);低氧 + ZnPP-IX 组大鼠血浆 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 含量较低氧组减少 29.39%($P < 0.01$),而与对照组相比无显著差异($P > 0.05$)。

(iii) L-NAME 对体内 CO 含量的影响。肺组织匀浆 CO 含量在 3 组大鼠间差异具有显著性($P < 0.01$)。低氧组肺组织匀浆 CO 含量较对照组增加 43.15%;低氧 + L-NAME 组大鼠肺组织匀浆 CO 含量较低氧组降低 26.07% (P 均 < 0.01)。

(iv) L-NAME 对肺动脉 HO-1 表达的影响。各级肺动脉平滑肌细胞 HO-1 蛋白表达在 3 组大鼠间差异均具有显著性($P < 0.001$)。其中低氧组大鼠大、中、小三级肺动脉平滑肌细胞 HO-1 表达积分值均较对照组明显增高;低氧 + L-NAME 组大鼠肺动脉平滑肌细胞 HO-1 表达积分值较低氧组又显著降低(P 均 < 0.01)。

3 讨论

前期研究显示,慢性低氧时大鼠内源性 NO 含

表 2 L-NAME 对低氧大鼠肺动脉压力及内源性 HO/CO 的影响($\bar{x} \pm s$)^{a)}

组别	数量/只	肺动脉平均压/Pa	血浆 NO ₃ ⁻ 和 NO ₂ ⁻ /μmol · L ⁻¹	肺组织 CO/mmol · g ⁻¹	平滑肌细胞 HO-1 表达积分值		
					大型肺动脉	中型肺动脉	小型肺动脉
低氧组	7	2.71 ± 0.29 [*]	4.15 ± 0.49 [*]	1.045 ± 0.025 [*]	67.9 ± 5.7 [*]	56.4 ± 8.9 [*]	42.1 ± 4.9 [*]
低氧+ L-NAME 组	7	3.10 ± 0.11 ^{*△}	2.93 ± 0.20 ^{*△}	0.735 ± 0.041 [△]	50.7 ± 7.9 [△]	41.4 ± 6.3 [△]	37.1 ± 3.9 ^{*△}
对照组	7	2.05 ± 0.13	4.75 ± 0.17	0.700 ± 0.043	46.4 ± 1.1	38.6 ± 6.9	22.1 ± 2.7

a) * 示 $P < 0.01$ (与对照组比较), Δ 示 $P < 0.01$ (与低氧组比较)

量、NOS 蛋白及基因表达均明显下调^[2,3]; 内源性 CO 含量、HO-1 蛋白表达呈现明显上调^[4], 揭示了两系统在低氧性肺动脉高压发病时的不同变化规律. 然而, 我们和国内外其他学者的研究也发现, 诱导肺内 NOS 或 HO-1 持续高表达, 可以增加体内 NO 或 CO 含量从而提高细胞内 cGMP 水平, 防止低氧性肺动脉高压和肺血管结构重建的发生^[2~6]; 本实验也证实无论是 HO-1 抑制剂 ZnPP-IX 还是 NOS 抑制剂 L-NAME, 均可加重低氧大鼠的肺动脉高压. 以上研究揭示了内源性 NO 和 CO 在预防低氧性肺动脉高压形成中的重要病理生理意义, 然而二系统在这一过程中的相互作用尚未得到阐明. 已知肺血管张力的调节有赖于血管壁不同类型细胞释放的血管收缩因子、舒张因子和生长因子之间的反馈作用^[9]. 我们通过实验发现, 气体分子 NO 和 CO 虽同属于血管舒张因子, 但在低氧性肺动脉高压发病中并非预想的那样互为负反馈因素. HO-1 抑制剂 ZnPP-IX 减少低氧大鼠 CO 生成的同时促使 NOS/NO 上调, 提示内源性 CO 对低氧条件下的 NOS/NO 系统具有负反馈调节作用; NOS 抑制剂 L-NAME 减少低氧大鼠 NO 生成的同时促使 HO/CO 下调, 提示内源性 NO 对低氧条件下的 HO/CO 系统具有正反馈调节作用.

以往研究大多认为, 正常生理状态下 NOS/NO 系统占主导地位, 发挥着快速而强大的促进血管平滑肌细胞松弛, 调节血管基础张力的作用; 而 HO/CO 系统可能是以缓慢而持久的方式调节血管功能的. Thorup 等人^[10]在研究中发现 CO 对阻力动脉 NO 的释放具有双向作用, 即生理低水平的 CO 可以通过增加腺苷酸环化酶的活性及诱导细胞内池 NO

的释放协同 NO 的作用; 而病理状态下(如氧压变化、败血症和血液动力学改变等), HO-1 的诱导及 CO 的产生明显增加, NO 与 CO 之间的协同关系被破坏, 高水平的 CO 可以从不同途径抑制 NOS/NO 系统: (1) 直接抑制 NO 的产生; (2) 通过氧化作用诱导过氧化氢的生成, 从而限制 NO 的活性; (3) 通过抑制 eNOS 活性, 减少 NO 的生成. 本实验采用 HO-1 抑制剂减少 CO 生成, 缓解了低氧时高水平 CO 对 NOS/NO 系统的抑制, 从而使肺组织 NO 含量及 eNOS 表达相对于单纯低氧时有所增加. 因有学者研究报道^[11]CO 能够以时间和浓度依赖性地抑制内皮细胞中血管收缩剂 ET-1 和 PDGF-B 的产生, 此作用可被金属原卟啉的加入所抑制, 故将 ZnPP-IX 应用于低氧大鼠时, 内源性 NO 的相对上调可能不足以抵消由于 CO 合成减少所导致的 ET-1 和 PDGF-B 相对增多的综合作用, 因而导致肺动脉高压较单纯低氧时更为显著.

关于 NO 对肺动脉平滑肌细胞 HO/CO 系统的调节机制还不十分清楚. Durate 等人^[12]应用 HO cDNA 探针研究证实, 无论是内源性 NO 生成增加还是外源给予 NO 均能明显地诱导平滑肌细胞 HO-1 的基因转录水平增加. Lipton 等人^[13]研究发现, NO 可以促进来自血红素蛋白的游离血红素释放, 从而增加 CO 底物的生成, CO 产量随之增多. 此外, NO 所介导的血红素释放还可以诱导 HO-1 的表达. 因此, NOS 抑制剂 L-NAME 可能通过降低 HO-1 的基因转录水平, 减少游离血红素释放, 抑制 HO-1 的表达, 促使肺组织含量及 HO-1 表达相对下调, 接近于基础水平. 有资料表明, NO 舒张血管, 抑制平滑肌细胞增殖的作用部分是通过抑制内皮细胞 ET-1, PDGF-B 的生成间接实

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb2002-47-20-1561>

现的^[14]。因此, NOS 的抑制不仅减少了肺组织 NO 和 CO 这两种重要的血管舒张剂的含量, 也削弱了 NO 对 ET-1, PDGF-B 的抑制, 肺血管舒缩因子的相对平衡被打破, 从而导致低氧性肺动脉高压的程度进一步加重。

由于内源性 NO 和 CO 是小分子气体, 都能自由通过各种生物膜, 增加细胞内 cGMP 水平, 实现复杂病理生理功能的调节, 已被公认为内源性“气体信号分子”。因具备持续产生、传播迅速和作用广泛的特点, 它们对肺循环的作用与其他器官相比更具有特殊意义, 低氧性肺动脉高压的机制研究也由此而进入了一个全新的阶段。本实验从气体信号调节网络这个崭新的视角出发, 揭示了慢性低氧这一病理状态下内源性 NO 与 CO 的相互调节特点, 即 CO 抑制内源性 NOS/NO 系统, 而 NO 促进内源性 HO/CO 系统, 为进一步深化低氧性肺动脉高压发病机理提供了新的论据。气体信号分子 NO 和 CO 在细胞与分子水平的相互作用可能代表了两种分子间相互调节的一种快速、安全(气体信号具有迅速弥散并迅速消失的特点)的生物学通路, 即内皮细胞与平滑肌细胞通过各自所分泌的气体分子在细胞与分子水平网络式地相互调节, 在维持机体稳态中具有重要的病理生理意义^[15]。

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: 30070796, 39870844)及国家重点基础研究发展规划(批准号: G20000-56905)资助项目。

参 考 文 献

1 Nakamura M. Chronic hypoxic pulmonary hypertension. *Nippon Rinsho*, 2001, 59(6): 1181 ~ 1185

2 Du J B, Jia J F, Li W Z, et al. Nitric oxide impacts endothelin-1 gene expression in intrapulmonary arteries of chronically hypoxic rats. *Angiology*, 1999, 50(6): 479 ~ 485

3 Qi J G, Du J B, Wang L, et al. Alleviation of hypoxic pulmonary vascular structural remodeling by L-arginine. *Chin Med J*, 2001, 38(2): 114 ~ 117

4 石云, 杜军保, 曾超美, 等. 内源性一氧化碳/血红素氧合酶系统在低氧性肺动脉高压形成中的作用. *中华儿科杂志*, 2002, 40(4): 230 ~ 234

5 Christou H, Moria T, Hsieh C M, et al. Prevention of hypoxia-induced pulmonary hypertension by enhancement of endogenous heme oxygenase-1 in the rat. *Circ Res*, 2000, 86: 1224 ~ 1229

6 Caudill T K, Resta T C, Kanagy N L, et al. Role of endothelial carbon monoxide in attenuated vasoreactivity following chronic hypoxia. *Am J Physiol*, 1998, 275: R1025 ~ R1030

7 Vachharajani T J, Work J, Issekutz A C, et al. Heme oxygenase modulates selectin expression in different regional vascular beds. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 278: H1613 ~ H1617

8 Rees D D, Palmei R M J, Schulz R, et al. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol*, 1990, 101: 746 ~ 748

9 Dschietzig T, Richter C, Bartsch C, et al. Flow-induced pressure differentially regulates endothelin-1, urotensin II, adrenomedullin, and relaxin in pulmonary vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 289(1): 245 ~ 251

10 Thorup C, Jones C L, Gross S S, et al. Carbon monoxide induces vasodilation and nitric oxide release but suppresses endothelial NOS. *Am J Physiol*, 1999, 277(Renal Physiol 46): F882 ~ F889

11 Morita T, Kourembanas S. Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide. *J Clin Invest*, 1995, 96: 2676 ~ 2682

12 Durate W, Kroll M H, Christodoulides N, et al. Nitric oxide induces heme oxygenase-1 gene expression and carbon monoxide production in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1997, 80: 557 ~ 564

13 Lipton S A, Choi Y B, Pan Z H, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 1993, 364: 626 ~ 632

14 Kourembanas S, Mcquillan L P, Leung G K, et al. Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia. *J Clin Invest*, 1993, 92: 99 ~ 104

15 Kourembanas S, Moria T, Liu Y, et al. Mechanisms by which oxygen regulates gene expression and cell-cell interaction in the vasculature. *Kidney Int*, 1997, 51: 438 ~ 443