

## • 综述 •

## 肺泡上皮细胞功能特性与内毒素性急性肺损伤

张秋金(综述) 李银平 黎檀实(审校)

【关键词】 肺泡上皮细胞; 内毒素; 肺损伤, 急性

大量的研究表明,内毒素(LPS)是存在于革兰阴性细菌细胞壁外膜中以脂多糖为主的成分。LPS 可以引起急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),其病理变化为肺泡上皮细胞的弥散性损害,肺泡表面活性物质(pulmonary surfactant, PS)减少,大量多形核白细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)聚集于肺循环,造成肺脏实质细胞损伤和肺间隙水肿,肺泡上皮细胞和血管内皮细胞受损导致大量 PMN 和蛋白渗漏到肺泡腔内,支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中蛋白含量和 PMN 显著升高。因此,作为肺上皮屏障(alveolar epithelium barrier, AEB)的肺泡上皮细胞是否能得到有效的修复是治疗 ALI/ARDS 的关键<sup>[1]</sup>。

## 1 肺泡上皮细胞的生物学功能

肺泡上皮细胞是覆盖于肺泡表面的一层上皮细胞,分为 I 型和 II 型。肺泡 I 型上皮细胞(alveolar type I cell, AT-I 细胞)和肺泡 II 型上皮细胞(alveolar type II cell, AT-II 细胞)连接于同一基底膜上,构成肺上皮屏障,其功能在于清除肺泡内过多液体,保持肺泡相对干燥,以维持肺脏正常的气体交换功能。AT-I 细胞占整个肺泡细胞的 16%,但仅占肺泡总面积的 5%,常集中于肺泡表面的凹陷处和肺泡角;每个肺泡约有 5~8 个 AT-II 细胞。AT-II 细胞的功能包括:合成分泌 PS;跨膜运输能力;参与氧化代谢;前体细胞功能;作为某些激素的靶细胞<sup>[2]</sup>。AT-II 细胞是肺泡上皮细胞的干细胞,既能增殖成新的 AT-II 细胞,又可以在必要时分化成

AT-I 细胞,两种细胞在肺泡中的比例对于保持肺正常功能至关重要。AT-II 细胞通过代替损伤的细胞来恢复正常肺组织的结构与功能,参与肺泡上皮的修复过程,这个过程对于 ALI 肺组织病理反应过程非常重要。AT-I 细胞对于维持正常肺水转运,损伤后肺泡上皮细胞的增殖,保持肺泡壁完整性和保证正常气体交换都有重要作用。AT-II 细胞快速增殖是保持肺泡连续性,维护屏障功能和限制气道高反应性的关键因素。

## 2 LPS 的结构和生物学活性

LPS 由一个亲水的杂多糖和一个共价结合的脂质成分(类脂体 A)构成,其中杂多糖可进一步分为 O 特异链和核心寡糖。LPS 的作用有两个环节:①类脂体 A 与液体中 LPS 结合蛋白(LBP)或细胞膜的受体识别分子特异结合;②类脂体 A 通过受体介导机制活化细胞,增强丝裂和细胞毒性,或分泌生物活性物质如肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL-1 和 IL-6)。类脂体亲水区是与受体特异结合的主要结构;疏水区脂肪酸的数量、类型和位置是维持受体功能和细胞激活产生细胞因子的关键。此外 LPS 活性还与特殊的分子构象和超分子结构有关,后者可使 LPS 与宿主处于最适相互反应状态<sup>[3]</sup>。一方面,小剂量 LPS 可刺激机体免疫系统、血管系统以及炎症反应,增强宿主的免疫功能;但大量 LPS 则刺激单核/巨噬细胞等过多产生和分泌炎症介质,反而造成宿主损害。机体髓样、非髓样细胞受 LPS 诱导所表达的多种基因编码蛋白质,如细胞因子、黏附蛋白和酶等,在有益于机体防御的同时,也会造成有害于机体的功能紊乱,如脓毒症休克。目前认为 LPS 进入宿主后,与血液或细胞表面 LBP 形成复合物,再经由 CD14 分子介导产生 LPS 的激活效应,从而引起宿主反应<sup>[4]</sup>。此外尚有其他 LPS 相关受体介导 LPS 的效应。

## 3 LPS 致肺泡损伤的机制

严重感染是 ARDS 最常见的原因之一,约有 40%~50% 的 ARDS 患者与

感染或脓毒症有关。感染细菌以革兰阴性菌为主,LPS 的大量和持续释放是导致 ARDS 发生、发展的主要因素。在气管内注入 LPS 后,LPS 可通过局部的炎性细胞和炎症介质直接损伤肺组织,当其进入血液时亦可通过血液循环中多种效应细胞和炎症介质参与肺组织的广泛损伤<sup>[5]</sup>,这些炎性细胞主要包括 PMN、肺泡巨噬细胞等。被激活的 PMN 和肺泡巨噬细胞可以产生氧自由基、并释放 IL-1、TNF- $\alpha$  等多种炎症介质。这些炎性细胞和炎症介质相互作用,促使炎性反应信号逐步放大,损伤肺泡细胞,引起 PS 分泌减少,AEB 的破坏,导致肺水肿。虽然肺泡上皮细胞抗损伤能力较肺泡内皮细胞强,但 Brown 等<sup>[6]</sup>发现,兔吸入 LPS 气溶胶,亦可直接或间接通过激活的炎性细胞(PMN、肺泡巨噬细胞),使超氧化物产生增加,损伤肺泡上皮细胞,破坏 AEB,导致肺泡通透性增高。研究表明,一氧化氮(NO)也参与了 LPS 的致伤机制,使用一氧化氮合酶(NOS)抑制剂可明显对抗 LPS 的作用,降低肺泡上皮细胞的通透性<sup>[7]</sup>。ARDS 时肺泡 PMN、肺巨噬细胞黏附于肺泡表面并释放大量活性氧、蛋白酶及其他炎症介质,引起肺泡上皮细胞的损伤,增强肺泡上皮细胞对 LPS 的反应性,导致跨膜阻力降低<sup>[8]</sup>。肺泡上皮细胞不仅是损伤的靶细胞,其本身也可以产生大量的炎性介质,调控诱导型一氧化氮合酶(iNOS)产物,参与细胞间复杂的炎症反应过程<sup>[9]</sup>。

3.1 核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)与 ALI:在与 ARDS 发病机制密切相关的炎性因子表达调控中,NF- $\kappa$ B 活化起着重要作用。Blackwell 等<sup>[10]</sup>发现,NF- $\kappa$ B 可诱导与免疫和炎症有关的多种基因转录,这些基因编码的蛋白包括:TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8 等细胞因子,单核细胞趋化蛋白-1,细胞间黏附分子-1(ICAM-1),iNOS 等。这些炎性细胞因

作者单位:100853 北京,解放军总医院急诊科

通讯作者:黎檀实,医学博士,教授,硕士研究生导师,主任医师。

作者简介:张秋金(1972-),男(汉族),河北省石家庄市人,硕士研究生,主治医师。

子、黏附分子、趋化分子和生物活性酶都是重要的炎性介质。激活的 NF- $\kappa$ B 移位入核后常常上调多种靶基因的表达。由此可见,在 ALI 发病机制中涉及大部分细胞因子表达调控中, NF- $\kappa$ B 处于关键地位;在炎症反应复杂的细胞因子网络中, NF- $\kappa$ B 活化可能是一个中心环节<sup>[11]</sup>。

研究证实,内毒素血症可引起肺泡组织 NF- $\kappa$ B 的活化。Carter 等<sup>[12]</sup>发现, LPS 可通过酪氨酸激酶途径和磷脂酰胆碱特异的磷脂酶 C (PC-PLC) 途径启动肺泡吞噬细胞的 NF- $\kappa$ B 活化,活化的 NF- $\kappa$ B 结合到 IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  的启动序列上,促进肺泡吞噬细胞分泌 IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$ ,而 TNF- $\alpha$  又是 NF- $\kappa$ B 激活剂,通过正反馈作用, TNF- $\alpha$  又可激活单核细胞的 NF- $\kappa$ B,不但使 TNF- $\alpha$  分泌进一步增加,也可使其他细胞因子的分泌进一步增加,引起“级联(cascades)反应”。此外, Toga 等<sup>[13]</sup>观察到大鼠 ALI 时 AT- $\text{I}$  细胞内 iNOS 和 NF- $\kappa$ B 表达明显增加,而 NO 是炎症介质,在炎症反应中可致血管扩张,增加毛细血管通透性,促进水肿形成,且与超氧离子反应生成的代谢产物过亚硝酸发挥细胞毒作用。这些研究充分说明,在 ARDS 引起肺泡上皮细胞损伤的发病机制中,与炎症因子表达调控密切相关的 NF- $\kappa$ B 起着重要作用,它是联系炎性细胞受到炎症因子刺激后所发生应激反应信号转导通路的关键环节, NF- $\kappa$ B 的活化是炎症反应发生、发展过程中重要的早期事件。因此,针对 NF- $\kappa$ B,从 NF- $\kappa$ B 激活通路上的多个环节抑制其激活过程,有可能达到阻断 NF- $\kappa$ B 调节炎症反应蛋白合成,从而有效控制炎症发生和发展的目的。

**3.2 细胞凋亡(apoptosis)在 ALI 中的作用:**既往认为,ALI 时,肺部靶细胞死亡方式是坏死(necrosis)。近年来的研究表明, LPS、TNF 等可致 AT- $\text{I}$  细胞、肺血管内皮细胞凋亡增加, PMN 凋亡延迟。临床和动物实验表明,细胞凋亡可发生于 ALI 的不同时期和阶段<sup>[14]</sup>。气管内注入 LPS 致 ALI 的大鼠,可有 AT- $\text{I}$  增殖,但较短暂,细胞凋亡机制可能是促使其增生减弱的原因之一<sup>[15]</sup>。气管内注入 LPS 致 ALI 小鼠伤后 6 h 即可检测到凋亡的肺泡上皮细胞<sup>[16]</sup>。Albertine 等<sup>[17]</sup>研究发现,死于 ARDS 患者的 Fas

表达增加,且从 ALI 患者的肺泡水肿液中可检测到 Fas 配体(FasL)。这表明,许多损伤性刺激并非直接杀死细胞,而是触发了细胞的凋亡机制。细胞凋亡主要存在两条途径,一是经死亡受体介导,受体中最典型的是 CD95(Fas)和 TNFR1;二是线粒体依赖性途径<sup>[18]</sup>。Caspase3 的激活被认为是不同途径引起凋亡的共同通路。多细胞生物为了生存和延续,对外界各种刺激随时都在作出各种适应性的反应,细胞抗凋亡作用就是一种重要的主动过程。细胞抗凋亡作用的启动信号仍然是各种生存因子受体激酶的介导因子,激发以 NF- $\kappa$ B 为中心的正向级联放大信号转导通路,活化 NF- $\kappa$ B 依赖编码 TNF-2 介导的生存因子表达<sup>[19]</sup>。

ARDS 时, PS 严重缺乏, ALI 患者早期以高渗出性水肿为特点,晚期则表现为 AT- $\text{I}$  细胞沿肺泡腔间隔增生和纤维母细胞增殖。在此过程中, AT- $\text{I}$  细胞过度凋亡增加将加重病理变化和细胞数量的减少,这必将导致 PS 的减少。另外,在 ALI 病理变化过程中,需将受损的 AT- $\text{I}$  细胞清除,此过程可能引起炎症反应,加重已存在的肺组织损伤,因此,凋亡在调节炎症对肺损伤的反应方面,对上皮细胞发挥着重要作用<sup>[20]</sup>。由此可见,肺组织的细胞凋亡是维持其内环境稳定的基本因素。进一步研究 AT- $\text{I}$  细胞的凋亡机制,将有助于通过人为调控与凋亡相关的关键因素(如酶、生长因子和细胞因子)以控制凋亡的过程,这可能有助于找到治疗肺损伤、严重肺部感染及其他肺部疾病的新途径。

**3.3 肺水转运与 ALI:**肺上皮屏障在 ALI 肺泡水肿的发病机制及其恢复中具有重要意义。已知 AT- $\text{I}$  细胞上的跨膜转运系统主要包括上皮钠通道(Enac)和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶两种方式。前者由  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  三聚体组成,主要与肺内液体转运、吸收相关,在肺间质、小气道上皮及 AT- $\text{I}$  细胞均有表达,尤其以 AT- $\text{I}$  细胞分布最多,这些部位为肺内液体吸收的主要区域。后者包含有  $\alpha$ 、 $\beta$  两个亚基,  $\alpha$  为催化亚基,  $\beta$  则为钠泵控制成分。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶的表达及活性状态则对肺内液体清除有重要意义。同时由于肺泡上皮间为紧密连接,较血管内皮细胞间连接更为紧密,因此其通透性低于肺血管内皮的通透性,是防止肺泡水肿发生的主要屏障。而且 AT- $\text{I}$  细胞通过

其膜上的钠通道可将 Na<sup>+</sup> 从肺泡腔中摄入到细胞内,再通过 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶转入到肺组织间隙,促进肺泡液体的清除,  $\beta$  受体激动剂可上调这一机制。另外,正常状态下,肺泡对于水有很高的通透性,因此,可能还存在水通道来介导水自肺泡腔到肺毛细血管的转运<sup>[21]</sup>。所以肺泡上皮的完整性对于保持肺泡干燥、防御肺水肿显得尤为重要。ARDS 时炎性细胞释放的活性氧、蛋白酶及其他炎症介质等使肺泡上皮细胞脱落、分解, AEB 遭到破坏,失去正常的分子筛作用,通透性增加,导致蛋白质、组织液、炎性细胞进入肺泡<sup>[22]</sup>;同时失去转运功能,导致肺泡水肿。

**3.4 PS 与 ALI:** PS 在 AT- $\text{I}$  细胞的微粒体中合成,经高尔基体组装后贮存于板层体内,而后再转移到细胞表面,通过细胞膜融合及胞吐作用,将 PS 分泌到肺泡腔,在表面活性物质蛋白 A、B、C 协同下,在肺泡表面扩展,形成单分子的磷脂薄膜结构。PS 除了具有降低肺泡表面张力、防止肺泡萎陷,调节肺顺应性,保持小气道开放,防御肺水肿的作用外,还可增强巨噬细胞的迁移能力,促进其吞噬作用,抑制活化的炎性细胞产生活性氧,从而加强肺的防御能力,减轻氧化性肺损伤。ARDS 时,由于 AT- $\text{I}$  细胞损伤,导致 PS 合成减少,炎性细胞、介质的存在使其活性降低,最终导致肺顺应性降低、肺泡塌陷,形成肺水肿,并出现了肺透明膜。由于 PS 异常是 ARDS 的特征性表现之一,所以替代治疗作为 ARDS 的治疗手段一直是研究的热点,但由于 ARDS 时 PS 功能丧失,尽管动物实验发现 PS 替代治疗是有益的,但在临床试验中,资料尚少,目前仍处于探索阶段<sup>[23]</sup>。

#### 4 肺泡上皮细胞的修复

肺泡上皮细胞的功能特性决定了研究 AT- $\text{I}$  细胞增生、修复机制在 ARDS/ALI 中的重要意义。因为 ARDS 后,促进 AT- $\text{I}$  细胞增生以期恢复正常的 AEB,对于 ARDS/ALI 的治疗非常重要。研究表明,ALI 损伤修复在 ALI 开始几小时内即已出现,包括:①肺泡内纤维蛋白的移除,坏死组织的吞噬,肺泡腔、肺间质水肿液的吸收;②肺细胞、细支气管细胞的修复;③肺间质的修复。近来发现这些修复过程受到黏附分子整合素家族以及许多生长因子的调节<sup>[24]</sup>。

ALI 后受到损害的支气管肺泡上皮必须迅速修复以恢复肺功能。在上皮再生过程中, AT - I 细胞首先要迁移、扩展到重塑的基质上, 从而启动增生反应, 这一过程有许多细胞因子参与<sup>[25]</sup>。与 ARDS 修复有关的细胞因子主要有 IL - 1 $\beta$ 、肝细胞生长因子(HGF)、细胞动力增益因子(KGF)、转化生长因子- $\alpha$ (TGF -  $\alpha$ )、TGF -  $\beta$ 、成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)以及胰岛素样生长因子-1(IGF - 1)等。应当说, 在肺损伤修复中亦伴随有肺组织的纤维化, 因此, 进一步深入研究细胞因子作用机制, 使其在促进肺上皮细胞恢复、重建肺泡正常结构的同时, 避免过度纤维增生所致的纤维化倾向, 是今后需要注意的问题。

### 5 结 语

LPS 所致 ALI 时, NF -  $\kappa$ B、细胞凋亡、肺水转运、PS 等因素间相互作用, 伴随着大量炎症介质的释放, 引起弥漫性肺泡壁损伤, 导致肺泡气体交换功能的削弱。可见, 肺泡细胞损伤在 ARDS 发病机制中处于关键地位, 作为肺泡上皮的干细胞, AT - I 细胞可以自我复制、分化为 I 型细胞, 参与构成 AEB, 并具有分泌 PS 等多种功能, 它既是创伤与炎症反应的靶细胞, 又可通过合成和分泌细胞因子参与机体炎症反应, 对于维持肺稳态和肺损伤修复都非常重要。若 AT - I 细胞增生活跃, 肺泡壁能迅速得以修复, 重建肺泡上皮功能, 并可阻止纤维母细胞进入肺泡, 避免其产生胶原沉积于肺内, 从而阻止 ALI/ARDS 肺纤维化的发生。

因此, 深入了解 AT - I 细胞增殖、分化、液体转运、合成分泌的功能, 并研究与其相互作用的诸因素间关系, 对于 ALI/ARDS 的治疗有积极意义。

### 参考文献:

- 1 Lesur O, Berthiaume Y, Blaise G, et al. Acute respiratory distress syndrome: 30 years later[J]. *Can Respir J*, 1999, 6: 71 - 86.
- 2 毛宝龄, 钱桂生, 陈正堂, 主编. 急性呼吸窘迫综合征[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 58.
- 3 王迪得, 金惠铭, 主编. 人体病理生理学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 250.
- 4 Ulevitch R J, Tobias P S. Receptor - dependent mechanisms of cell stimulation

- by bacterial endotoxin [J]. *Annu Rev Immunol*, 1995, 13: 437.
- 5 张顺财, 主编. 内毒素基础与临床[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 334.
- 6 Brown M A, Lantz R C, Sobonya R, et al. Aerosolized lipopolysaccharide increases pulmonary clearance of <sup>99m</sup>Tc - DTPA in rabbits [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1992, 146: 1462 - 1468.
- 7 Li X Y, Donaldson K, MacNee W. Lipopolysaccharide - induced alveolar epithelial permeability: the role of nitric oxide [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157(4 Pt 1): 1027 - 1033.
- 8 Hirano S. Interaction of rat alveolar macrophages with pulmonary epithelial cells following exposure to lipopolysaccharide [J]. *Arch Toxicol*, 1996, 70(3 - 4): 230 - 236.
- 9 Gutierrez H H, Pitt B R, Schwarz M, et al. Pulmonary alveolar epithelial inducible NO synthase gene expression: regulation by inflammatory mediators [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(3 Pt 1): L501 - L508.
- 10 Blackwell T S, Christman J W. The role of nuclear factor - kappa B in cytokine gene regulation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17: 3 - 9.
- 11 Fan J, Ye R D, Malik A B. Transcriptional mechanisms of acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001, 281: L1037 - L1050.
- 12 Carter A B, Monick M M, Hunninghake G W. Lipopolysaccharide - induced NF - kappa B activation and cytokine release in human alveolar macrophages is PKC - independent and TK - and PC - PLC - dependent [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 18: 384 - 391.
- 13 Toga H, Tobe T, Ueda Y, et al. Inducible nitric oxide synthase expression and nuclear factor - kappa B activation in alveolar type I cells in lung injury [J]. *Exp Lung Res*, 2001, 27: 485 - 504.
- 14 蒋建新, 主编. 细菌内毒素基础与临床[M]. 第 2 版. 北京: 人民军医出版社, 2004. 265.
- 15 Tesfaigzi J, Wood M, Johnson N F, et al. Apoptosis is a pathway responsible for the resolution of endotoxin - induced alveolar type I cell hyperplasia in the rat [J]. *Int J Exp Pathol*, 1998, 79: 303 - 311.
- 16 Fujita M, Kuwano K, Kunitake R, et al. Endothelial cell apoptosis in lipopolysaccharide - induced lung injury in mice [J].

- Int Arch Allergy Immunol*, 1998, 117: 202 - 208.
- 17 Albertine K H, Soulier M F, Wang Z, et al. Fas and fas ligand are up - regulated in pulmonary edema fluid and lung tissue of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Pathol*, 2002, 161: 1783 - 1796.
- 18 Hengartner M O. The biochemistry of apoptosis [J]. *Nature*, 2000, 407: 770 - 776.
- 19 Mohan S, Hayden J M, Baylink et al. The insulin - like growth factor system and couple of formation to resorption [J]. *Growth Regul*, 1993, 3: 67 - 75.
- 20 黎檀实, 尹明, 冯丽洁, 等. 急性肺损伤中肺泡 I 型细胞凋亡机制的研究现状 [J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14: 185 - 187.
- 21 Matthay M A, Fukuda N, Frank J, et al. Alveolar epithelial barrier: role in lung fluid balance in clinical lung injury [J]. *Clin Chest Med*, 2000, 21: 477 - 490.
- 22 Holter J F, Weiland J E, Pacht E R, et al. Protein permeability in the adult respiratory distress syndrome: loss of size selectivity of the alveolar epithelium [J]. *J Clin Invest*, 1986, 78: 1513 - 1522.
- 23 Lewis J F, Jobe A H. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1993, 147: 218 - 233.
- 24 Lazarov S, Balutsov M, Ianev E, et al. Pulmonalna reparatsia sled respiratoren distres - sindrome pri v'zrastni (pulmonary repair after adult respiratory distress syndrome) [J]. *Vutr Boles*, 2000, 32: 41 - 47.
- 25 Lesur O, Arsalane K, Lane D. Lung alveolar epithelial cell migration in vitro: modulators and regulation processes [J]. *Am J Physiol*, 1996, 70(3 Pt 1): L311 - 319.

(收稿日期: 2005 - 04 - 26

修回日期: 2005 - 05 - 30)

(本文编辑: 郭方)

### • 广告目次 •

- ① 珠海丽珠: 丽珠血液灌流器 ..... (封二)
- ② 天津红日: 血必净 ..... (插页)
- ③ 北京四环医药: 苏诺 ..... (插页)
- ④ 徐州恩华药业: 力月西 ..... (插页)
- ⑤ 伟康医疗: ESPRIT™ 呼吸机 ..... (封底)