

稳定表达血管生成素 1 的骨髓间充质干细胞对内毒素诱导急性肺损伤干预作用的研究进展

胡占升

【关键词】 肺损伤, 急性; 骨髓间充质干细胞; 血管生成素 1

急性肺损伤(ALI)是由感染、创伤、休克等多种原因引起的弥漫性肺微血管内皮细胞损伤导致的血管通透性增高,以肺间质、肺泡水肿和肺不张为病理生理特征,临床表现为进行性呼吸窘迫和顽固性低氧血症,严重者可发展成为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)^[1]。目前对ALI/ARDS的研究主要集中在气血屏障稳定性和其相关的基因方面^[2]。

血管生成素(Angs)家族与血管内皮生长因子(VEGF)参与的信号转导途径对调节血管网形成必不可少,这个途径包括VEGF和Angs激活的酪氨酸激酶受体VEGFR1~3和具有免疫球蛋白样及表皮生长因子同源结构域的酪氨酸蛋白激酶(Tie)。近年来对新生血管性疾病和血管渗漏的研究发现,Ang-1/Tie系统抑制新生血管形成、促进血管成熟、抑制血管渗漏的特点逐步被人们所认识,对Ang-1的作用和Ang-1/Tie系统的机制也有了一定的研究。

1 Ang-1 的结构及生理作用

1996年Davis等^[3]首先发现并克隆成功Ang-1,发现它由498个氨基酸组成,其中N端有一疏水的分泌信号肽和 α 螺旋的结构域,C端包含一纤维蛋白原类似结构域。Ang-1基因位于染色体8q22.3-q23部位,分泌相对分子质量约70000的糖蛋白,主要由血管周围细胞、血管平滑肌细胞和肿瘤细胞分泌。

Ziegler等^[4]于1992年从人胎盘中成功克隆出了一种新的蛋白酪氨酸激酶受体基因TEK/Tie2。Tie2受体是一种含有1122个氨基酸的跨膜型酪氨酸激酶受体,由胞外区、跨膜区和胞内区构成,其胞外区由2个免疫球蛋白样片段、3个富含半胱氨酸区和3个纤溶酶重复

作者单位:121001 辽宁锦州,辽宁医学院附属第一医院ICU

作者简介:胡占升(1969-),男(汉族),辽宁省人,医学硕士,副教授,Email:wkyjs@163.com.

序列组成,胞内区结构具有酪氨酸激酶活性。Tie受体(包括Tie1、Tie2)是存在于内皮细胞上的一类特异性酪氨酸激酶受体,在胚胎发育过程中始终表达于内皮细胞和造血干细胞上。

Ang-1/Tie2对血管的成熟起到了至关重要的作用。Ang-1或者Tie2缺陷的转基因鼠不能形成完整的心血管系统,并会对胚胎造成严重的破坏。与VEGF作用不同的是,Ang-1/Tie2并不促进内皮细胞有丝分裂,它通过调节内皮细胞和间叶细胞间的相互作用,如血管周围细胞、平滑肌细胞和细胞外基质(ECM)来增加新生血管的成熟性^[5]。Ang-1/Tie2与VEGF的相互作用有利于血管形态和功能的完整,这已经成为临床上治疗实体肿瘤和伤口愈合等疾病的研究位点。

Ang-1/Tie2可调节血管的渗透性。Baffert等^[6]研究表明,Ang-1和Tie2是血管渗透性增加的一个理想的干预性治疗位点。Ang-1可以促进一个低水平的渗漏,并且可以降低内皮细胞对炎症刺激的反应性。而与VEGF作用不同的是,动物血管过度表达Ang-1不引起红细胞渗漏和组织水肿,而且Ang-1转基因鼠耳部对芥子油、血小板活化因子(PAF)等炎症刺激因子作用下引起的伊文思蓝标记的白蛋白溢出明显减少。Ang-1已经成为已知的少数几个以减少血浆白蛋白渗漏为特征的内源性超渗漏因子之一。

Ang-1还可以调节淋巴系统的发育。研究表明,Ang-2缺陷的转基因鼠存在淋巴管外形和功能的严重缺陷,而这种缺陷在应用Ang-1后可以得到挽救,这提示Ang-1在淋巴生成中可能扮演重要的角色^[7]。这些主要基于以下发现:Tie2在淋巴内皮细胞中表达;软骨低聚基质蛋白血管生成素1(COMP-Ang-1)可增加体外培养淋巴细胞集落形成,并且这一作用可以被可溶性Tie2 fc段完

全抑制;COMP-Ang-1在体内可以增加鼠角膜淋巴管生成,加入可溶性Tie2(sTie2)后可阻断这一作用。Ang-1可增加淋巴管网络的形成,也可以排出渗出的血浆成分和组织中过多的蛋白,这或许可以为控制组织水肿提供一条重要的治疗途径。

2 Ang-1 表达的调节途径

Ang-1与Tie2结合后可引起与Tie2相连的磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3-k)的激活,活化的PI3-k作用于磷酸肌醇脂,提高胞内1,4,5-三磷酸肌醇(1,4,5-IP3)和3,4,5-IP3的含量,二者正性调节丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)。Akt结合PI后被磷酸化引起一系列生理变化^[8]。PI3-k由调节亚基p85、p55及催化亚基p110 α 、p110 β 、p110 δ 组成,它的活化和调控受Ras和酪氨酸激酶作用^[9]。p110 α 在包括内皮细胞在内的一系列细胞中表达,很多实验证明,PI3-k在内皮细胞增殖、迁移、存活方向起重要作用,异种纯合子突变体p110 α 的胚胎鼠在9.5~10.5d死亡。实验表明,PI3-k如果在内皮细胞中起作用,必须依赖Tie2的正常表达,这对血管的调节很重要,体外培养内皮细胞显示PI3-k对Tie2有下调作用^[10]。然而,Lelievre等^[11]研究表明,PI3-k可以通过与Tie2的相互作用来维持Tie2蛋白水平,而Tie2作为Ang-1的受体也可以通过PI3-k调节内皮细胞。这也许会解释PI3-k缺陷鼠与Tie2缺陷鼠相似的血管缺陷。但是PI3-k如何调控Tie2蛋白水平,是通过直接调控Tie2还是通过其他因子或者信号机制来调控Tie2的表达,仍尚未明确。

Carlson等^[12]试验证明,Ang-1能够在缺乏Tie2时与整联蛋白 β 1结合起到细胞黏附作用。Huang等^[13]报道整联蛋白 α 9 β 1是淋巴系统发育所必需的。由此推测Ang-1可能还参与了其与整联蛋白之间信号途径的传输。Lemieux等^[14]研究表明,Ang-1可以促进细胞黏

附,并且这一过程是由内皮细胞 $\alpha 5$ 整联蛋白介导的;酪氨酸激酶受体与整联蛋白共用许多下游机制,特别是激活 Tie2 募集 p85、磷酸化黏着斑激酶(FAK)、调节 RhoGTP 酶,这对 ECM 的重塑及内皮细胞增殖、存活、凋亡和移动很重要。整联蛋白能够允许内皮细胞黏附于称为“临时”ECM 的成分上,如纤维整合素、胶原质、玻璃体结合蛋白,它们暴露于新出芽血管的基底部^[15]。研究发现^[16]:整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 、 $\alpha 5\beta 1$ 可以上调新生血管形成,而 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 的抑制物抑制体内外新生血管生成; $\alpha 2$ 结合抗体抑制 VEGF-A 诱导的新生血管形成, $\alpha 5$ 空白的胚胎和畸胎瘤中发现血管缺陷; $\alpha 5\beta 1$ 的激活在体内对维持 Ang-1 的正常生理作用是必需的;与整联蛋白结合会导致生长因子受体自身磷酸化,并且生长因子与整联蛋白在其他生长因子或者整联蛋白作用下可以相互联合;在内皮细胞中,Tie2 以自由形态出现并且联合整联蛋白 $\alpha 5\beta 1$,当 $\alpha 5\beta 1$ 被激活时,Tie2 在较低浓度时被磷酸化,而在高浓度 Ang-1 时这种激活被减弱;而且 $\alpha 5\beta 1$ 表达影响依赖 Ang-1 的 Tie2 激活。

研究表明 Ang-1 和 Ang-4 可以激活 Tie1,并且可以增加 Ang-1、Ang-4 与 Tie2 的结合^[17];还可以水解 Tie1 的外功能区,然后激活 pkc,产生能够传递信息的 Tie1 受体。与 Tie2 一样,Tie1 的激活可以通过 PI3-k/Akt 途径增加内皮细胞的存活。Saharinen 等^[17]发现 COMP-Ang-1 可以激活体外培养细胞 Tie1 磷酸化,而且 Tie1 的激活可以通过 Tie2 放大,并且比自身 Ang-1/Ang-4 诱导的激活更加有效。但是 COMP-Ang-1 诱导的成年血管重建主要通过 Tie2 而不是 Tie1。

Ets 是转录因子调节血管生长的关键部位^[18],通过激动受体分析证明,其中的一个序列(E-1)是激活培养细胞所必需的,选择性 E-1 三聚体可导致 Tie1 激活的内皮细胞被显著抑制。鼠科动物 Tie1 的启动子通过 Ets-1、Ets-2、Elf-1 和 Nerf-2 在体外转录,并且 Ets 序列突变会导致鼠类 Tie1 启动子活性减弱^[19]。Ets 蛋白还是许多内皮相关基因的重要调节因素,包括血栓调节蛋白、血管性假血友病因子(vWF)、细胞间黏附分子 2(ICAM-2)、血管内皮钙黏蛋白、VEGF 受体 Flt-1。研究表明,删除 E-2

序列不会影响人类的 Tie1 启动子活性,E-1 序列是保持体外 Tie1 活性的最低要求^[20]。同样,很多具有 Ets 结合部位的转录因子在血管相关基因表达中起着重要的作用,包括 Tie2、血栓调节蛋白、ICAM-2 和血管内皮钙黏蛋白,它们在血管内皮增殖、分化功能上起关键作用,这个途径也许会进一步扩大有关肿瘤和病理性血管内皮增殖、血管功能紊乱性疾病的治疗思路^[20]。

3 展望

随着研究的深入,发现很多疾病过程与血管的再生、渗透性增加或血管功能异常引起的组织缺血、缺氧有关,研究调节血管网的信号转导机制已成为治疗这类疾病的一个有效途径。Ang-1/Tie 系统在增加血管成熟性、减少新生血管生成、抑制渗漏、增加淋巴管形成、促进组织液回流、减少水肿中起到了重要的作用^[21]。构建稳定表达 Ang-1 的骨髓间充质干细胞,并将其应用于 ALI 的治疗可能会收到良好的效果。

参考文献

[1] 王应灯,孙耕耘. 灯笼花素对血小板活化因子致肺微血管内皮细胞损伤的影响[J]. 中国药理学通报,2004,20(7):780-783.
 [2] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南[J]. 中国危重病急救医学,2006,18(12):706-710.
 [3] Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor, by secretion-trap expression cloning [J]. Cell, 1996, 87(7):1161-1169.
 [4] Ziegler SF, Bird TA, Schneringer JA, et al. Molecular cloning and characterization of a novel receptor protein tyrosine kinase from human placenta [J]. Oncogene, 1993, 8(3):663-670.
 [5] Suri C, Jones PF, Patan S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor, during embryonic angiogenesis [J]. Cell, 1996, 87(7):1171-1180.
 [6] Baffert F, Le T, Thurston G, et al. Angiopoietin-1 decreases plasma leakage by reducing number and size of endothelial gaps in venules [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290(1):H107-H118.
 [7] Saharinen P, Tammela T, Karkkainen MJ, et al. Lymphatic vasculature, development, molecular regulation and

role in tumor metastasis and inflammation [J]. Trends Immunol, 2004, 25(7):387-395.
 [8] Witzensbichler B, Maisonpierre PC, Jones P, et al. Chemotactic properties of angiopoietin-1 and -2, ligands for the endothelial-specific receptor tyrosine kinase Tie2 [J]. Biol Chem, 1998, 273(29):18514-18521.
 [9] Fruman DA, Meyers RE, Cantley LC. Phosphoinositide kinases [J]. Biol Chem, 1998, 67:481-507.
 [10] Kawasaki K, Smith RS Jr, Hsieh CM, et al. Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt pathway mediates nitric oxide-induced endothelial cell migration and angiogenesis [J]. Cell Biol, 2003, 23(16):5726-5737.
 [11] Lelievre E, Bourbon PM, Duan LJ, et al. Deficiency in the p110 alpha subunit of PI3K results in diminished Tie2 expression and Tie2-/-like vascular defects in mice [J]. Blood, 2005, 105(10):3935-3938.
 [12] Carlson TR, Feng Y, Maisonpierre PC, et al. Direct cell adhesion to the angiopoietins mediated by integrins [J]. Cell Biol Chem, 2001, 276(28):26516-26525.
 [13] Huang XZ, Wu JF, Ferrando R, et al. Fatal bilateral chylothorax in mice lacking the integrin alpha9beta1 [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(14):5208-5215.
 [14] Lemieux CR, Maliba R, Favier J, et al. Angiopoietins can directly activate endothelial cells and neutrophils to promote proinflammatory responses [J]. Blood, 2005, 105(4):1523-1530.
 [15] Kalluri R. Basement membranes, structure, assembly and role in tumour angiogenesis [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(6):422-433.
 [16] Cascone I, Napione L, Maniero F, et al. Stable interaction between alpha 5 beta 1 integrin and Tie2 tyrosine kinase receptor regulates endothelial cell response to Ang-1 [J]. J Cell Biol, 2005, 170(6):993-1004.
 [17] Saharinen P, Kerkela K, Ekman N, et al. Multiple angiopoietin recombinant proteins activate the Tie1 receptor tyrosine kinase and promote its interaction with Tie2 [J]. Cell Biol, 2005, 169(2):239-243.
 [18] Wernert N, Justen HP, Rothe M, et al. The Ets-1 transcription factor is upreg-

ulated during inflammatory angiogenesis in rheumatoid arthritis [J]. J Mol Med, 2002, 80(4): 258-266.

[19] Dube A, Thai S, Gaspar J, et al. Elf-1 is a transcriptional regulator of the Tie2 gene during vascular development [J].

Circ Res, 2001, 88(2): 237-244.

[20] Hewett PW, Daft E, Murray JC. Cloning and characterization of the human Tie2 receptor tyrosine kinase gene promoter [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 252(3): 546-551.

[21] 常颖, 齐欣, 卜丽莎, 等. 成人骨髓间充质干细胞体外多向分化潜能特征性的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(2): 95-97.

(收稿日期: 2008-06-01)

(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

“5·12”四川汶川特大地震成都市某野战医院 207 例后送伤员的伤情分析

刘辉 梁朝阳 张威 李媛 宋青 杨仕明

【关键词】 汶川； 地震； 骨折； 截肢； 伤情分析

2008 年 5 月 12 日 14 时 28 分, 四川汶川县发生里氏 8.0 级特大地震, 造成山体滑坡, 泥石流冲毁房屋, 大量伤员掩埋其中, 救援工作十分困难。现对成都市某野战医院在震后 2 周内收治伤员的伤情进行分析, 以期明确地震创伤的特点, 为诊治提供依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象: 收集地震发生后 2 周内成都市某野战医院收治的 207 例伤员的基本资料, 包括性别、年龄、诊断、手术名称、到达医院的时间, 以及受伤时的情况、后送方式及缺少治疗的时间等。

1.2 统计学方法: 采用奇思软件包对数据进行统计分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 计数资料用例数、率和构成比表示。

2 结果

2.1 一般情况及受伤地域分析(表 1): 207 例伤员中男 116 例, 女 91 例, 年龄 11~82 岁, 平均(41.63±10.73)岁。伤员多来自震中及附近的重灾区, 主要以汶川、彭州及都江堰等地区为主, 伤员后送时间为 1~6 d, 平均(3.46±1.14)d。由于后送时间长, 造成部分伤员后期的截肢及胃肠道功能障碍(数据未显示)。

作者单位: 100853 北京, 解放军总医院外科重症监护科(刘辉, 宋青), 胸外科(梁朝阳), 心内科(张威), 手术室(李媛), 耳鼻咽喉头颈外科(杨仕明)

通信作者: 杨仕明, Email: yangsm301@263.net

作者简介: 刘辉(1977-), 男(汉族), 湖南省人, 医学博士, 主治医师, Email: weichu1977@yahoo.com。

表 1 207 例伤员受伤地域分析

受伤地域	伤员数 [例(%)]	受伤地域	伤员数 [例(%)]
汶川	50(24.2)	北川	6(2.9)
彭州	42(20.3)	青川	6(2.9)
都江堰	36(17.4)	茂县	5(2.4)
成都市市郊	32(15.5)	其他	9(4.3)
绵竹	21(10.1)		

2.2 伤情分析(表 2): 伤员主要以骨折为主, 常合并颅脑及胸腹部外伤。13 例伤员行截肢手术。13 例伤员既往有高血压、心脏病、慢性支气管炎病史, 在地震中受到惊吓或吸入粉尘后急性发作。

表 2 207 例伤员的主要诊断分类及骨折伤情分析

诊断分类 [例(%)]	伤员数	损伤部位或处置	伤员数 [例次(%)]
骨科	130(62.8)	四肢骨折	109(52.6)
脑外	29(14.0)	多发骨折	40(19.3)
普外	19(9.2)	脊椎、骨盆骨折	31(15.0)
内科	13(6.3)	多发伤	29(14.0)
胸外	11(5.3)	急诊手术	19(9.2)
泌尿外	5(2.4)	截肢	13(6.3)

2.3 合并伤情分析: 伤员入院后, 主要创伤迅速得到救治, 病情逐渐稳定, 合并伤情得到进一步诊治。共有 112 例伤员存在隐匿性合并伤, 如脑震荡、鼓室积血、鼻骨骨折、颌面部脓肿、颅骨骨折等, 其中大部分伤情可行保守观察治疗, 但也有 21 例伤员需要及时处理, 6 例伤员需手术治疗。

3 讨论

汶川特大地震中, 许多伤员全身受

压, 呼吸道内充满泥沙, 其创伤特点为创面大、部位多、范围广、多发骨折、脏器破坏严重、血管断裂; 许多伤员被坍塌的房屋砸伤, 所以背部伤、骶尾部骨折、股骨粗隆下骨折多见。在收治的 207 例伤员中, 没有发现其他致伤因素(如烧伤)导致的复合伤患者。伤员多来自地震灾害最严重的地区, 山地导致救援行动难以迅速展开, 只能使用直升机及冲锋舟小批量后送伤员, 因此大部分伤员在废墟中获救后, 只能在灾区等待后送, 造成许多伤员后期出现消化功能欠佳等康复问题。伤员以外伤为主, 按主要诊断进行分类收入骨科处理骨折的伤员占 62.8%, 其次为颅脑外科、普外科、内科、胸外科及泌尿外科患者。伤员常为多个部位同时骨折, 多发生于四肢且常合并颅脑、胸腹部损伤。由于汶川特大地震造成道路交通的严重毁损, 导致救治不能迅速展开, 一部分伤员肢体受到损伤后不能及时解救或处理, 待送到野战医院后需要进行截肢。

值得注意的是, 在入院后随着伤员主要伤情得到及时救治, 一些在院前没有得到诊断的伤情被逐渐诊断出来。其中大部分伤情可行保守观察治疗, 有的需及时处理或手术处理; 还有个别伤员有高血压、糖尿病等基础病史, 如不及时发现并处理, 则会影响伤员的进一步康复和创口愈合。因此, 伤员在入院后, 应在及时处理主要伤情的基础上, 尽快组织专科会诊, 还可利用远程设备及时进行远程专家诊治, 节省人力、物力及时间, 完善伤员的诊断, 进一步深入治疗。

(收稿日期: 2008-08-31)

(本文编辑: 李银平)