

• 综述 •

血管生成素 2 在脓毒症和急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的作用

张如愿(综述) 汤耀卿(审校)

【关键词】 脓毒症; 急性肺损伤; 急性呼吸窘迫综合征; 血管生成素 2

脓毒症引起的急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)、脓毒性休克及多器官功能障碍综合征(MODS)是其重要致死原因^[1],而伴有急性器官功能障碍的严重脓毒症是目前重症监护病房(ICU)患者死亡的主要原因^[2]。毛细血管受损及高通透性,组织液体外渗,引起低血容量性休克、组织水肿,过多白细胞黏附、穿出血管,引起组织破坏,是脓毒症所致各器官功能障碍、MODS及死亡的共同病理生理机制。因此,对脓毒症及ALI/ARDS的某些病理生理共同通路如内皮屏障破坏所致血管渗漏进行干预,则有可能提供新的治疗手段。

1 血管生成素与含有免疫球蛋白和表皮生长因子同源结构域 2 的酪氨酸激酶(Ang-Tie2)系统

内皮细胞在脓毒症发展过程中具有重要作用,有可能作为新治疗靶点^[3-4]。近年研究表明,内皮并不只是血液和组织间的机械屏障,而是一个代谢活跃的器官系统,相当于一个输入/输出装置,其表型具有时空差异,在受到外界刺激后可迅速作出反应,表现出某些急性特质^[5]。内皮细胞在脓毒症和ALI/ARDS中一个重要的研究方向是Ang-Tie2系统^[6]。Ang最早作为一种血管形成因子,主要研究其在血管生成中的作用。而Tie2是Ang的特异性受体,是血管内皮细胞特异性的受体型酪氨酸磷酸化激酶,主要表达于血管内皮细胞,其活化对内皮细胞功能有重要影响。Ang家族主要有4个成员,即Ang1、Ang2、Ang3和Ang4,其中对Ang1、Ang2的研究最多。Ang1由多种细胞分泌,目前认为其通过

旁分泌作用于内皮细胞Tie2受体,可产生激动作用,进而维持内皮细胞的稳定性。相反,Ang2主要由内皮细胞分泌,其过表达可破坏血管形成,Ang2作用于内皮细胞特异性受体Tie2,进而拮抗Ang1和Tie2结合,导致血管通透性增高,引起血管渗漏^[7]。静息状态下的血管内皮细胞很少量表达Ang2,但在受到外来刺激后,内皮细胞激活,Ang2合成明显增加^[8-9]。Ang2由血管内皮细胞合成并储存于内皮细胞特有的Weibel-Palade小体(Weibel-Palade小体),内皮细胞受刺激后Ang2可被快速释放^[10],从而提示,Ang-Tie2系统除了以往人们所认为的在血管生成中的作用之外,还在急性血管反应如炎症和凝血中有重要作用。这表明Ang2是Ang-Tie2轴的动力调节因素,作为开关控制着内皮细胞从静息状态迅速转向激活状态。

2 Ang2与脓毒症和ALI/ARDS

Parikh等^[11]的研究首次发现Ang2是脓毒症相关肺损伤时内皮屏障破坏的重要介质。在氧合受损的脓毒症患者,血循环Ang2水平明显增高,体外应用患者血清可破坏内皮细胞屏障,且内皮屏障的破坏程度和Ang2含量相关;进一步在体外单独应用重组Ang2也可破坏内皮屏障功能和结构;在健康成年小鼠体内输入重组的Ang2也引起了明显的肺血管渗漏和肺水肿。这些结果表明,严重脓毒症血循环Ang2明显增高,过度增高的Ang2对肺高通透性具有重要病理作用。在以后的研究中他们还发现,脓毒性休克患儿的Ang2也明显增高^[12]。Orfanos等^[13]的临床研究不但发现严重脓毒症血循环Ang2增高,且与肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和MODS评分及序贯性器官衰竭评分(SOFA)呈正相关。

van der Heijden等^[14]的研究则拓展了上述发现,证实无论脓毒症还是非脓毒症的危重患者,血循环Ang2均与肺血管渗漏性水肿及ALI/ARDS严重程度相关;而且Ang2与血管性血友病因

子(vWF)对渗漏性水肿和ARDS有预测价值,二者循环中水平相关,表明它们有着共同的来源。这可能与Ang2、vWF均保存于内皮细胞Weibel-Palade小体,在受到刺激后被释放有关^[10]。同时也解释了vWF可作为内皮激活和渗漏性损伤的标志物,与ALI/ARDS结局相关,但其本身并不是引起血管渗漏的因子^[15-16]。此外, van der Heijden等未发现非ALI与ALI/ARDS之间Ang1循环水平的差异,但是Ang2、Ang2/Ang1比值均与肺血管通透性和ALI/ARDS呈平行性增高^[14]。这支持Ang2可拮抗Ang1的保护作用,引起肺血管通透性增高而导致ALI/ARDS的观点^[7]。

与此相似, Gallagher等^[17]发现,在外科ICU伴ALI/ARDS患者中,死亡组血中Ang2水平比存活组明显增高(分别为19.8 μ g/L和5.3 μ g/L)。同时还发现,体外用高Ang2的血浆对内皮细胞单层刺激可破坏其内皮连接,血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)在内皮连接处分布紊乱,有肌动蛋白应力纤维形成,引起内皮细胞间隙形成;而低Ang2的血浆则未见上述反应。

在创伤中的研究则加深了对这方面的理解。Ganter等^[18]报道创伤患者血浆Ang2水平与损伤严重程度相关。Ang2在创伤后早期即被释放入血,其在血浆中的浓度与损伤严重程度及低灌注相关。高水平Ang2与凝血异常、补体系统激活及临床预后差相关,提示Ang2不但可能是内皮细胞激活的标志物,而且可介导组织损伤和水肿。Giamarellos-Bourboulis等^[19]进一步发现,多发性创伤患者随脓毒性休克的出现,血清Ang2增高明显,并与脓毒症进展及不良预后相关,Ang2 < 15.2 μ g/L的患者比 > 15.2 μ g/L的患者存活时间长。

Fiedler等^[20]在动物实验中发现,Ang2基因敲除(Ang2^{-/-})小鼠在金黄色葡萄球菌所致腹膜炎中不能诱发炎症反应。与野生型小鼠相比,Ang2^{-/-}小鼠

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.10.028

基金项目:上海市重点学科建设基金项目(S30204)

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院 SICU

通信作者:汤耀卿,Email:yaoqing.tang@hotmail.com

腹腔冲洗液中的中性粒细胞数大大降低;而两组动物血液中白细胞亚分类数和质量均无差异,说明 Ang2^{-/-}小鼠炎症反应能力的受损并非由明显的白细胞缺陷所致。而在腹腔金黄色葡萄球菌诱发腹膜炎 30 min 前腹腔注入重组 Ang2 则可恢复 Ang2^{-/-}小鼠的炎症反应缺陷,Ang2 的这种保留炎症反应的作用可被输入可溶性 Tie2 所阻断。在其他 ALI 小鼠模型中也可以检测到血浆 Ang2 水平升高^[21]。Rovietto 等^[22]进行的动物体内实验研究表明,将重组 Ang2 注入体内可引起血管渗漏和水肿形成。这与 Parikh 等^[11]发现 Ang2 可诱发急性肺水肿的研究结果一致。

脓毒症及 ALI/ARDS 中 Ang2 水平增高与多种因素有关。炎症中关键的细胞因子 TNF- α 可引起内皮细胞 Ang2 表达增高^[23]。研究发现脂多糖(LPS)可刺激 Ang2 表达。在小鼠体内注射 LPS 后可引起肺和肝脏中 Ang2 的 mRNA 和蛋白水平成倍增高,而 Ang1 和 Tie2 明显降低,Tie2 的酪氨酸磷酸化也明显减弱^[24]。在体外,LPS 对 Ang1 的调节作用呈现细胞特异性,在人上皮细胞明显诱导 Ang1 表达,在肌成纤维细胞 Ang1 表达降低,而这两种类型的细胞在受到 LPS 刺激后 Ang2 mRNA 水平均明显上升^[24]。从而表明内毒素血症中 Ang1 和 Tie2 表达降低,而 Ang2 水平增高,引起 Ang1-Tie2 途径功能抑制,从而导致脓毒症血管渗漏加重。

Simon 等^[25]研究表明,低氧可诱导低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)依赖的 Ang2 上调。在人微血管内皮细胞中,HIF-1 α 可结合于定位在 Ang2 基因第一个内含子的进化保守低氧反应区,从而在低氧上调 Ang2 中发挥重要作用。在脓毒症患者中发现,循环中高水平的 Ang2 和低氧指数相关^[11]。Kümpers 等^[26]也发现,在内科危重患者,高 Ang2 水平与 SOFA 和急性生理学及慢性健康状况评分系统 I (APACHE I)评分相关,多元回归分析显示 Ang2 水平可作为 30 d 生存期的独立预后因素,同时发现 Ang2 水平和低氧指数有关。此外,Ang2 基因的变异也是 Ang2 功能异常的基础。以前 Ward 等^[27]研究未发现人 Ang1 的基因多态性,然而检测到 Ang2 有 3 个独立的单态性。最近,Su 等^[28]进一步发现 Ang2 的基因变异可增加 ARDS 的风

险,尤其是肺外损伤的患者,这可能跟 Ang2 基因变异影响了 Ang2 的表达及血管稳定性有关。

3 Ang2 对脓毒症和 ALI/ARDS 的靶向治疗作用

前期研究表明,Ang1-Tie2 可调节血管的通透性,在脓毒症和 ALI/ARDS 中具有明显保护作用^[29]。在腹腔注射 LPS 诱发的脓毒症模型中发现,Ang1 可以稳定血流动力学,减轻肺损伤和降低黏附分子的表达^[30]。在大鼠实验中发现,Ang1 基因治疗可改善 LPS 诱发的 ALI^[31-33]。Ang1 有血管保护作用,可以抑制血浆渗漏、血管炎症和阻止内皮细胞死亡,其可能成为脓毒症的一种治疗方式,但 Ang1 也可引起血管重构、诱导血管生成和肺动脉高压等^[34-35]。而更有针对性的以 Ang2 为靶向的干预则可能提出新的治疗措施。

在体内过表达 Ang2 的可溶性受体 Tie2 可通过结合 Ang2 发挥阻断作用,但由于内皮细胞稳定剂 Ang1 也可被结合,因而可溶性受体 Tie2 的应用有可能会受到限制。目前已发现可特异性抑制 Ang2 活性的抗体和 Fc 肽融合蛋白可选择性阻断 Ang2 与 Tie2 结合,而不与 Ang1 结合^[36],因而可在脓毒症和 ALI/ARDS 动物模型中应用 Ang2 阻断剂进行干预实验。智能配体(aptamers)表现出对蛋白质靶分子的强亲合性,可选择性抑制靶分子在体内的功能。应用 Ang1 智能配体和 Ang1 高度特异性结合,抑制其激活 Tie2 受体磷酸化从而稳定内皮的功能^[37]。因此,应用 Ang2 智能配体抑制 Ang2 的功能也可能为脓毒症和 ALI/ARDS 的抗血管渗漏提供新的治疗策略。

4 小结与展望

总之,近期大量研究表明 Ang2 在脓毒症及 ALI/ARDS 中具有重要病理作用。然而,目前的临床研究尚未监测 Ang2 的动态变化^[38],Ang2 动态变化的研究将为针对 Ang2 进行特异性干预的时机提供基础。此外,由于可溶性 Tie2 具有和 Ang1、Ang2 结合的能力,因此需要进一步在临床研究中检测可溶性 Tie2 水平,这将加深对 Ang-Tie2 系统在危重症中作用的理解。最后,用封闭抗体或 RNA 智能配体抑制 Ang2 功能的研究方法已经在肿瘤血管生成领域得到应用,为其在脓毒症和 ALI/ARDS 中应

用研究提供了可能。因此,需要在脓毒症模型动物实验中对 Ang2 进行抑制实验,进而有可能发现新的治疗手段。

参考文献

- [1] 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(2006). 中国危重病急救医学, 2006, 18(12):706-710.
- [2] 严静, 刘大为. 降低严重感染与感染性休克的病死率:机遇与挑战并存. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3): 插页.
- [3] Aird WC. Endothelium as a therapeutic target in sepsis. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(4):501-507.
- [4] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*, 2003, 101(10):3765-3777.
- [5] Aird WC. Endothelium as an organ system. *Crit Care Med*, 2004, 32(5 Suppl): S271-279.
- [6] van der Heijden M, van Nieuw Amerongen GP, Chedamni S, et al. The angiotensin-Tie2 system as a therapeutic target in sepsis and acute lung injury. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(1):39-53.
- [7] Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science*, 1997, 277(5322): 55-60.
- [8] Huang YQ, Li JJ, Hu L, et al. Thrombin induces increased expression and secretion of angiopoietin-2 from human umbilical vein endothelial cells. *Blood*, 2001, 99(5):1646-1650.
- [9] Pichiule P, Chavez JC, LaManna JC. Hypoxic regulation of angiopoietin-2 expression in endothelial cells. *J Biol Chem*, 2004, 279(13):12171-12180.
- [10] Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, et al. The Tie-2 ligand angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood*, 2004, 103(11):4150-4156.
- [11] Parikh SM, Mammoto T, Schultz A, et al. Excess circulating angiopoietin-2 may contribute to pulmonary vascular leak in sepsis in humans. *PLoS Med*, 2006, 3(3):e46.
- [12] Giuliano JS Jr, Lahni PM, Harmon K, et al. Admission angiopoietin levels in children with septic shock. *Shock*, 2007, 28(6):650-654.
- [13] Orfanos SE, Kotanidou A, Glynos C,

- et al. Angiopoietin-2 is increased in severe sepsis; correlation with inflammatory mediators. *Crit Care Med*, 2007, 35(1):199-206.
- [14] van der Heijden M, van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, et al. Angiopoietin-2, permeability oedema, occurrence and severity of ALI/ARDS in septic and non-septic critically ill patients. *Thorax*, 2008, 63(10):903-909.
- [15] Ware LB, Conner ER, Matthay MA. von Willebrand factor antigen is an independent marker of poor outcome in patients with early acute lung injury. *Crit Care Med*, 2001, 29 (12): 2325-2331.
- [16] Ware LB, Eisner MD, Thompson BT, et al. Significance of von Willebrand factor in septic and nonseptic patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170(7):766-772.
- [17] Gallagher DC, Parikh SM, Balonov K, et al. Circulating angiopoietin 2 correlates with mortality in a surgical population with acute lung injury/adult respiratory distress syndrome. *Shock*, 2008, 29(6):656-661.
- [18] Ganter MT, Cohen MJ, Brohi K, et al. Angiopoietin-2, marker and mediator of endothelial activation with prognostic significance early after trauma? *Ann Surg*, 2008, 247(2):320-326.
- [19] Giamarellos-Bourboulis EJ, Kanellakopoulou K, Pelekanou A, et al. Kinetics of angiopoietin-2 in serum of multi-trauma patients; correlation with patient severity. *Cytokine*, 2008, 44(2):310-313.
- [20] Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, et al. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF-alpha and has a crucial role in the induction of inflammation. *Nat Med*, 2006, 12(2):235-239.
- [21] Bhandari V, Choo-Wing R, Lee CG, et al. Hyperoxia causes angiopoietin 2-mediated acute lung injury and necrotic cell death. *Nat Med*, 2006, 12(11):1286-1293.
- [22] Roviezzo F, Tsigkos S, Kotanidou A, et al. Angiopoietin-2 causes inflammation in vivo by promoting vascular leakage. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314(2):738-744.
- [23] Kim I, Kim JH, Ryu YS, et al. Tumor necrosis factor-alpha upregulates angiopoietin-2 in human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 269(2):361-365.
- [24] Mofarrahi M, Nouh T, Qureshi S, et al. Regulation of angiopoietin expression by bacterial lipopolysaccharide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(5):L955-963.
- [25] Simon MP, Tournaire R, Pouyssegur J. The angiopoietin-2 gene of endothelial cells is up-regulated in hypoxia by a HIF binding site located in its first intron and by the central factors GATA-2 and Ets-1. *J Cell Physiol*, 2008, 217(3):809-818.
- [26] Kumpers P, Lukasz A, David S, et al. Excess circulating angiopoietin-2 is a strong predictor of mortality in critically ill medical patients. *Crit Care*, 2008, 12(6):R147.
- [27] Ward EG, Grosios K, Markham AF, et al. Genomic structures of the human angiopoietins show polymorphism in angiopoietin-2. *Cytogenet Cell Genet*, 2001, 94(3-4):147-154.
- [28] Su L, Zhai R, Sheu CC, et al. Genetic variants in the angiopoietin-2 gene are associated with increased risk of ARDS. *Intensive Care Med*, 2009, 35(6):1024-1030.
- [29] 胡占升. 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. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(10):627-629.
- [30] Witzensbichler B, Westermann D, Kneuppel S, et al. Protective role of angiopoietin-1 in endotoxic shock. *Circulation*, 2005, 111(1):97-105.
- [31] McCarter SD, Mei SH, Lai PF, et al. Cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(10):1014-1026.
- [32] Mei SH, McCarter SD, Deng Y, et al. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1. *PLoS Med*, 2007, 4(9):e269.
- [33] Xu J, Qu J, Cao L, et al. Mesenchymal stem cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. *J Pathol*, 2008, 214(4):472-481.
- [34] Brindle NP, Saharinen P, Alitalo K. Signaling and functions of angiopoietin-1 vascular protection. *Circ Res*, 2006, 98(8):1014-1023.
- [35] Chu D, Sullivan CC, Du L, et al. A new animal model for pulmonary hypertension based on the overexpression of a single gene, angiopoietin-1. *Ann Thorac Surg*, 2004, 77(2):449-456.
- [36] Oliner J, Min H, Leal J, et al. Suppression of angiogenesis and tumor growth by selective inhibition of angiopoietin-2. *Cancer Cell*, 2004, 6(5):507-516.
- [37] White RR, Roy JA, Viles KD, et al. A nuclease-resistant RNA aptamer specifically inhibits angiopoietin-1 mediated Tie2 activation and function. *Angiogenesis*, 2008, 11(4):395-401.
- [38] Giuliano JS Jr, Wheeler DS. Excess circulating angiopoietin-2 levels in sepsis; harbinger of death in the intensive care unit? *Crit Care*. 2009, 13(1):114.

(收稿日期:2009-03-20)

修回日期:2009-09-10

(本文编辑:李银平)

• 书讯 •

《脑血管病手册》(中文翻译版)

由 Harold P. Adams Jr 教授主编,樊东升教授主译的《脑血管病手册》(第 2 版)已于 2009 年 2 月在科学出版社出版;该书系统介绍了脑血管疾病的流行病学与危险因素、临床特点、解剖和血管支配、影像学检查、诊断和预后等;以循证医学的方式系统论述国际上各研究中心对急性缺血性脑血管病的溶栓治疗、抗凝与抗血小板治疗、神经保护剂治疗、脑血管阻塞病变的经皮扩张与支架辅助成形术的研究成果;并详细介绍出血性脑血管病的内科与外科治疗,蛛网膜下腔出血、动脉瘤、动静脉畸形与其他血管异常的处理;最后论述脑静脉血栓、脊髓血管病、脑血管炎、儿童与青年卒中、孕期脑血管疾病等特殊情况的诊断与处理。该书全面、详细介绍了脑血管病的国际发展前沿和新技术。本书适合神经内外科、急诊科医师及研究生参考使用。

各地新华书店及医学专业店有售,定价:188.00 元。邮购电话:010-64034601,64019031;地址:100717 北京市东黄城根北街 16 号 科学出版社 温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否要发票等)。