

·综述·

机械通气所致肺损伤的分子生物学机制研究进展

陈林 尚游 姚尚龙

自机械通气成为治疗急性呼吸衰竭及救治危重症患者的重要手段以来,机械通气所致的呼吸机相关性肺损伤(VILI)作为并发症之一早已受到许多医学学者的关注。机械通气过程中气体在肺泡及肺间质集聚形成的容积伤和气压伤是导致肺损伤的原因之一,临床表现为肺间质水肿、气胸、纵隔气肿、空气栓塞等,因此机械性损伤过程已被普遍接受。但越来越多的研究表明,除机械性损伤之外,生物性损伤也参与了 VILI 的发生发展过程,且生物损伤过程较机械损伤更为复杂,详细机制有待进一步阐明。现将 VILI 分子生物学机制的研究进展综述如下。

1 促炎介质与抗炎介质失衡

在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征(ALI/ARDS)发展过程中,炎症介质起着重要致病作用,同时,炎症介质也参与了 VILI 的发生,促炎介质和抗炎介质平衡状态的破坏将诱发肺损伤。大潮气量机械通气后,支气管肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素(IL-1 β 、IL-6、IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及巨噬细胞炎性蛋白 2(MIP-2)等促炎介质水平升高,肺损伤程度随着其表达升高而加重,其中,IL-6 水平升高由核转录因子- κ B(NF- κ B)介导^[1-2]。Ko 等^[1]通过基因敲除的方法证实,机械通气小鼠的 NF- κ B 抑制剂(I κ B)激酶缺失会显著降低体内 IL-6 的表达,从而证实 NF- κ B-IL-6 轴在 VILI 中的调节作用。傅威等^[3]研究发现,机械牵拉应力会引起人肺动脉内皮细胞中 IL-8、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达增加,表明肺动脉内皮细胞也参与了机械通气过程中肺部炎症反应。然而,抗炎细胞因子 IL-10 则可以减轻肺损伤,吸入 IL-10 可以减少大潮气量机械通气引起的基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和热休克蛋白 70(HSP70)的生成,同时减少巨噬细胞中一氧化氮(NO)表达^[4]。与 TNF- α 促进肺损伤的作用相反,Hartmann 等^[5]发现,来源于 TNF- α 的一种拟凝集素样结构域的多肽可以降低机械通气过程中肺血管通透性,抑制肺水肿形成,降低肺损伤的组织评分,增加肺氧合水平,从而减轻 VILI。

MMP 同样参与了 VILI 的免疫反应。研究表明,大潮气量机械通气后肺组织中 WNT/ β -连环蛋白(β -catenin)通路被激活,激活的 β -catenin 介导自身转位入核,从而上调 MMP-7 表达,引发肺组织损伤^[6]。Albaiceta 等^[7]发现敲除 MMP-8 基因或者特异性阻断 MMP-8 可以减轻大潮气量机械通气所致

肺损伤。与对照组相比,MMP-8 基因敲除小鼠肺内白细胞浸润减少, γ -干扰素及趋化因子 MIP-2 水平明显降低,抗炎细胞因子 IL-4、IL-10 水平明显增高,且敲除该基因并不影响 MMP-2、MMP-9 的表达。此外,MMP-9 的表达升高、活性增强与 VILI 模型中白细胞浸润呈正相关;使用 MMP-9 阻滞剂后,其表达明显下降,肺组织内白细胞聚集减少,肺组织损伤减轻^[8]。多西环素也可以通过抑制 MMP-9 的产生而起到减轻肺损伤的作用^[9]。

另外,有研究表明 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体也参与了调控 VILI。Wu 等^[10]发现,离体的肺泡巨噬细胞经过机械牵拉激活 NLRP3,进一步通过依赖天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1(caspase-1)和 Toll 样受体 4(TLR4)途径引起 IL-1 β 的释放,释放到细胞外的 IL-1 β 通过其他途径参与肺部炎症和损伤过程。在体实验也证实了 NLRP3 的激活会导致 IL-1 β 释放增加,随之肺损伤程度加重。

S100 钙结合蛋白 A8/A9 复合体(S100A8/A9)在炎症发生发展过程中也起着重要作用,它由激活的巨噬细胞产生并释放至胞外。机械通气小鼠 BALF 中 S100A8/A9 增多,同时,气管内给予 S100A8/A9 可明显上调正常小鼠体内促炎细胞因子表达,进而促进中性粒细胞聚集,且其致炎效应与机械通气呈协同作用。进一步研究表明,TLR4 信号通路参与了 S100A8/A9 导致的 VILI 病理过程^[2]。

2 氧化/抗氧化平衡状态的破坏

氧化和抗氧化之间平衡状态的维持有利于机体行使正常功能,氧化物质生成增加或抗氧化作用减弱均可能造成组织损伤。在肺组织中,诸多因素引起多形核白细胞(PMN)的激活增加,从而兴奋线粒体还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶复合体,合成髓过氧化物酶(MPO)、超氧阴离子、次氯酸等氧化物,并产生大量氧自由基,从而对肺组织及细胞造成损伤。

周期性机械牵拉会引起肺泡上皮细胞活性氧簇生成增多^[11],在体实验中大潮气量机械通气也会引起肺组织内活性氧簇和活性氮簇生成增加,导致肺组织血管功能破坏^[12]、肺组织水肿,从而参与 VILI 的发生发展。Davidovich 等^[13]研究发现,离体大鼠 I 型肺泡上皮细胞经过机械牵拉后,活性氧簇、超氧化物和 NO 水平增高,且与牵拉幅度和时间相关,氧化产物通过激活 NF- κ B 通路和细胞外信号调节激酶(ERK)通路引起上皮细胞通透性增加,而这些损伤作用均可被超氧化物清除剂及 I κ B 所缓解。同时研究发现,适量的血红素加氧酶-1 可以上调超氧化物歧化酶(SOD)表达并降低丙二醛(MDA)以及乳酸脱氢酶(LDH)水平,提高机体抗氧化能力以减轻 VILI 过程中氧化应激导致的肺组织损伤^[14]。

有研究表明,大潮气量机械通气小鼠肺损伤与内皮细胞

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.015

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(30930089)

作者单位:430022 湖北武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院麻醉科

通信作者:尚游,Email:you_shang@yahoo.com

一氧化氮合酶-3(NOS-3)表达相关,NOS-3 基因缺陷小鼠在机械通气后肺顺应性较对照组增加,BALF 内蛋白质及炎症细胞因子浓度降低。但 NOS-3 引发的肺损伤与 NO 无关,而是诱导过氧化物(MDA、异前列烷)生成增加以及增强 MPO 活性,引发肺组织内白细胞浸润、聚集,这一过程可以被四氢生物喋呤和维生素 C 所阻断^[15]。除 NOS 参与大潮气量机械通气肺损伤以外,丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)通路介导的信号转导也参与其中。大潮气量通气会引发 MAPK 激活,继而增加黄嘌呤氧化还原酶的表达,导致体内活性氧簇产生增多;MAPK 激活也会诱导 caspase 活性增加以及肺泡上皮细胞凋亡,caspase 的激活又会引发肺泡屏障功能的破坏,增加肺损伤的程度^[16]。

在吸入高浓度氧后进行大潮气量机械通气所致肺损伤动物模型中,肺损伤过程也由活性氧簇介导。模型组与对照组相比,DNA 氧化应激损伤标志物 8-羟基-2-脱氧鸟苷明显升高,该过程中 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路被激活,抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸可以抑制 JNK 的激活;同时,特异性的 JNK 阻断剂可以减少细胞色素 C 的产生,减轻线粒体介导的细胞凋亡^[17]。Makena 等^[17-18]的研究也发现,该模型中肺组织损伤的程度要高于大潮气量机械通气所致肺损伤的程度,肺组织中过氧化物生成增加,激活凋亡信号调节激酶-1(ASK-1),磷酸化的 ASK-1 以及活化的 JNK 可以上调裂解的 caspase-3 及二磷酸腺苷核糖聚合酶 1(PARP-1)的表达,从而促进肺泡上皮细胞凋亡,进一步加重肺损伤程度,证实了肺损伤中氧化应激和细胞凋亡的相关性。

3 细胞表面分子构象改变、细胞骨架重塑

细胞表面连接蛋白、细胞骨架是存在于细胞表面及细胞内的蛋白质分子,其结构的稳定性为维持组织细胞正常功能所必须,同时也为胞外的机械信号转导为胞内的生物信号奠定了分子基础。

微粒是一类由损伤或者凋亡的血小板、血细胞及血管内皮细胞脱落产生的细胞膜片段。有研究表明 ARDS 患者肺上皮细胞微粒形成增加^[19]。Vion 等^[20]研究发现,脂多糖与机械刺激共同作用并不能明显增加机械牵拉导致的肺动脉内皮微粒的生成。基础或病理水平的机械牵拉引起的微粒释放受到 caspase 抑制剂的影响,并且病理水平的机械牵拉不会诱发肺动脉内皮细胞显著凋亡。因而提出机械牵拉引起的肺动脉内皮微粒产生是一个依赖 caspase 的过程,而与肺动脉内皮细胞凋亡无关,即 caspase 抑制剂可以通过减少肺动脉内皮细胞微粒的释放减轻 VILI 的损伤程度。

另外,有研究表明,在 VILI 模型中连环蛋白 p-120 的表达减少,而 C-src 酪氨酸激酶抑制剂可上调其表达。在体实验也证实,连环蛋白 p-120 的减少会引起肺血管屏障的破坏,从而产生肺水肿^[21]。闭锁蛋白(Occludin)是细胞间紧密连接蛋白中的一种,它通过 ZO-1 与细胞内的肌动蛋白细胞骨架相连,从而保持细胞连接的紧密性。在周期性机械牵拉刺激下,Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1/蛋白激酶 B(Rac1/Akt)通路激活,Occludin 表达降低,细胞连接紧密性破坏,细胞间通透

性增高^[22]。机械牵拉刺激除了下调 Occludin 的表达造成肺损伤之外,它也会上调某一类连接蛋白表达。Wray 等^[23]研究发现,VILI 早期小鼠肺组织中封闭蛋白 4(Claudin4)表达升高,而 Claudin3 及 Claudin18 的表达无明显变化。离体实验证明 MAPK 通路参与了 Claudin4 表达,其表达的升高依赖于蛋白激酶 C 的激活。Claudin4 的表达增加可以维持肺泡上皮功能的完整性,减轻肺水肿,起到肺脏保护作用。

机械牵拉导致细胞骨架内肌动蛋白的重塑也参与了 ALI 的发展过程,机械牵拉幅度和频率的升高会增加肺泡上皮细胞通透性^[24],同时使得肌动蛋白向周围连接肌动蛋白环转变,细胞膜上肌动蛋白锚和位点重排,细胞间紧密连接结构破坏,继而导致上皮细胞屏障功能障碍^[25]。微管相关鸟嘌呤核苷酸交换因子 H1(GEF-H1)也参与了 Rho 信号通路在内皮细胞通透性的调节作用,肺动脉内皮细胞经过机械牵拉之后细胞间微管网络结构解聚,导致细胞再定向并激活 Rho 信号通路。而 GEF-H1 的下调则能抑制机械牵拉引发的 Rho 通路激活,减少应力纤维的形成和细胞骨架重排。在体实验中,GEF-H1 可减少大潮气量机械通气小鼠 BALF 中细胞数量及蛋白质含量,降低肺泡通透性,缓解 VILI^[26]。

4 其他相关分子机制

气道黏液蛋白在众多肺部疾病中扮演重要角色,如支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病(COPD)以及 VILI。Koeppen 等^[27]发现,大潮气量机械通气会上调黏液蛋白 MUC5AC 的 mRNA 及蛋白表达;进一步的研究表明,该过程中 NF- κ B 结合至 MUC5AC 转录起始位点上游 -229 至 -217 区域,使 MUC5AC 基因转录活性增加。MUC5AC 表达上调会导致 MPO 活性增强,趋化因子 CXCL-1、CXCL-2 表达增多,从而趋化中性粒细胞向肺组织转移,引起肺损伤。

此外,水通道蛋白(AQP)也参与了 VILI 的发病过程。AQP 为一种小分子聚合膜蛋白,主要位于 I 型肺泡上皮细胞,其在肺泡上皮细胞对水的选择性通过中起着重要调控作用。大潮气量机械通气会引起 AQP5 表达减少,增加肺泡血管壁对水的通透性,使肺内水清除发生障碍,继而加重肺水肿程度,增加肺组织损伤程度^[28]。

5 治疗及展望

目前,对 VILI 的治疗除了应用抗炎细胞因子药物、环氧化酶抑制剂^[29]、抗氧化剂以及肌肉松弛药^[30]以外,还包括间充质干细胞治疗^[31]、体外膜肺氧合(ECMO)、高频振荡通气(HFOV)^[32-33]以及个体化的呼气末正压(PEEP)通气等机械通气方法。总之,对 VILI 发生相关机制及治疗方法的进一步研究,可为今后预防和治疗 VILI 提供切实可行的理论依据,给危重症患者特别是需要呼吸机辅助通气的患者带来更好的预后,同时最大程度地减轻机械通气导致的肺组织损伤。

参考文献

- [1] Ko YA, Yang MC, Huang HT, et al. NF- κ B activation in myeloid cells mediates ventilator-induced lung injury [J]. Respir Res, 2013, 14: 69.
- [2] Kuipers MT, Vogl T, Aslami H, et al. High levels of S100A8/A9 proteins aggravate ventilator-induced lung injury via TLR4

- signaling[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e68694.
- [3] 傅威, 毛璞, 张容, 等. 机械牵张对人肺动脉内皮细胞中细胞因子及细胞间黏附分子-1 表达的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(8):484-488.
 - [4] Hoegl S, Boost KA, Czerwonka H, et al. Inhaled IL-10 reduces biotrauma and mortality in a model of ventilator-induced lung injury [J]. Respir Med, 2009, 103(3):463-470.
 - [5] Hartmann EK, Boehme S, Duenges B, et al. An inhaled tumor necrosis factor- α -derived TIP peptide improves the pulmonary function in experimental lung injury [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2013, 57(3):334-341.
 - [6] Villar J, Cabrera NE, Casula M, et al. WNT/ β -catenin signaling is modulated by mechanical ventilation in an experimental model of acute lung injury [J]. Intensive Care Med, 2011, 37(7):1201-1209.
 - [7] Albaiceta GM, Gutierrez-Fernández A, García-Prieto E, et al. Absence or inhibition of matrix metalloproteinase-8 decreases ventilator-induced lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2010, 43(5):555-563.
 - [8] Kim JH, Suk MH, Yoon DW, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 prevents neutrophilic inflammation in ventilator-induced lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 291(4):L580-587.
 - [9] Doroszko A, Hurst TS, Polewicz D, et al. Effects of MMP-9 inhibition by doxycycline on proteome of lungs in high tidal volume mechanical ventilation-induced acute lung injury [J]. Proteome Sci, 2010, 8:3.
 - [10] Wu J, Yan Z, Schwartz DE, et al. Activation of NLRP3 inflammasome in alveolar macrophages contributes to mechanical stretch-induced lung inflammation and injury [J]. J Immunol, 2013, 190(7):3590-3599.
 - [11] Chapman KE, Sinclair SE, Zhuang D, et al. Cyclic mechanical strain increases reactive oxygen species production in pulmonary epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 289(5):L834-841.
 - [12] Martínez-Caro L, Lorente JA, Marín-Corral J, et al. Role of free radicals in vascular dysfunction induced by high tidal volume ventilation [J]. Intensive Care Med, 2009, 35(6):1110-1119.
 - [13] Davidovich N, DiPaolo BC, Lawrence GG, et al. Cyclic stretch-induced oxidative stress increases pulmonary alveolar epithelial permeability [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 49(1):156-164.
 - [14] 赵文静, 胡伟伟. 血红素加氧酶-1 表达对大鼠呼吸机相关性肺损伤的作用及机制研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2010, 22(7):410-413.
 - [15] Vaporidi K, Francis RC, Bloch KD, et al. Nitric oxide synthase 3 contributes to ventilator-induced lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 299(2):L150-159.
 - [16] Le A, Damico R, Damarla M, et al. Alveolar cell apoptosis is dependent on p38 MAP kinase-mediated activation of xanthine oxidoreductase in ventilator-induced lung injury [J]. J Appl Physiol (1985), 2008, 105(4):1282-1290.
 - [17] Makena PS, Gorantla VK, Ghosh MC, et al. Lung injury caused by high tidal volume mechanical ventilation and hyperoxia is dependent on oxidant-mediated c-Jun NH2-terminal kinase activation [J]. J Appl Physiol (1985), 2011, 111(5):1467-1476.
 - [18] Makena PS, Gorantla VK, Ghosh MC, et al. Deletion of apoptosis signal-regulating kinase-1 prevents ventilator-induced lung injury in mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 46(4):461-469.
 - [19] Bastarache JA, Fremont RD, Kropski JA, et al. Procoagulant alveolar microparticles in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297(6):L1035-1041.
 - [20] Vion AC, Birukova AA, Boulanger CM, et al. Mechanical forces stimulate endothelial microparticle generation via caspase-dependent apoptosis-independent mechanism [J]. Pulm Circ, 2013, 3(1):95-99.
 - [21] Dai CY, Dai GF, Sun Y, et al. Loss of p120 catenin aggravates alveolar edema of ventilation induced lung injury [J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(15):2918-2922.
 - [22] DiPaolo BC, Davidovich N, Kazanietz MG, et al. Rac1 pathway mediates stretch response in pulmonary alveolar epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(2):L141-153.
 - [23] Wray C, Mao Y, Pan J, et al. Claudin-4 augments alveolar epithelial barrier function and is induced in acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297(2):L219-227.
 - [24] Cohen TS, Cavanaugh KJ, Margulies SS. Frequency and peak stretch magnitude affect alveolar epithelial permeability [J]. Eur Respir J, 2008, 32(4):854-861.
 - [25] DiPaolo BC, Lenormand G, Fredberg JJ, et al. Stretch magnitude and frequency-dependent actin cytoskeleton remodeling in alveolar epithelia [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2010, 299(2):C345-353.
 - [26] Birukova AA, Fu P, Xing J, et al. Mechanotransduction by GEF-H1 as a novel mechanism of ventilator-induced vascular endothelial permeability [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 298(6):L837-848.
 - [27] Koeppen M, McNamee EN, Brodsky KS, et al. Detrimental role of the airway mucin Muc5ac during ventilator-induced lung injury [J]. Mucosal Immunol, 2013, 6(4):762-775.
 - [28] 刘洋, 王月兰, 宋秀梅, 等. 机械通气相关性肺损伤大鼠肺组织水通道蛋白 5 表达的变化 [J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(2):234-237.
 - [29] Jin LD, Wang LR, Wu LQ, et al. Effects of COX-2 inhibitor on ventilator-induced lung injury in rats [J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2):288-295.
 - [30] Papazian L, Forel JM, Gacouin A, et al. Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome [J]. N Engl J Med, 2010, 363(12):1107-1116.
 - [31] Curley GF, Ansari B, Hayes M, et al. Effects of intratracheal mesenchymal stromal cell therapy during recovery and resolution after ventilator-induced lung injury [J]. Anesthesiology, 2013, 118(4):924-932.
 - [32] 杜微, 刘大为, 石岩, 等. 高频振荡通气的机制及临床应用 [J]. 中国危重病急救医学, 2010, 22(7):443-446.
 - [33] Liu S, Yi Y, Wang M, et al. Higher frequency ventilation attenuates lung injury during high-frequency oscillatory ventilation in sheep models of acute respiratory distress syndrome [J]. Anesthesiology, 2013, 119(2):398-411.

(收稿日期:2013-12-11)

(本文编辑:李银平)

• 广告目次 •

- ①浙江医药:来可信 (封二)
- ②德尔格学院 (插页)
- ③郑州德维:脑电/肌电/意识水平监测仪 (插页)
- ④廊坊爱尔:炭肾 (插页)
- ⑤珠海健帆:血液灌流器 (插页)
- ⑥天津红日药业:血必净注射液 (插页)
- ⑦天津生化制药:琥珀氢可 (插页)
- ⑧罗氏诊断产品(上海)有限公司:血气分析仪 (插页)
- ⑨第一制药:克倍宁 (封三)
- ⑩江苏新晨:艾贝宁®盐酸右美托咪定注射液 (封四)