

## 脓毒症血管内皮损伤及调节策略的研究进展

杨霞 李香琴 马晓媛 田李星 梁华平

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所第一研究室创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400042)

**【摘要】** 脓毒症是由全身性感染引起的机体过度炎症反应和凝血功能紊乱的疾病。内皮功能障碍是脓毒症进一步演变为多器官功能障碍的中心环节,因此早期诊断并逆转内皮损伤对于改善脓毒症预后具有重要意义。本研究主要针对脓毒症内皮功能障碍及其调节策略作一综述。

**【关键词】** 脓毒症; 内皮损伤; 功能障碍

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征(SIRS),内皮功能障碍作为脓毒症的病理基础,是演变为多器官功能障碍的核心环节<sup>[1]</sup>。血管内皮细胞广泛分布于全身各处,内皮作为机体最大的“器官”,不仅是血液与组织间的屏障,同时还具有代谢、内分泌功能,在调节血管通透性、凝血和炎症反应等方面发挥着重要作用。脓毒症时,内皮相关的蛋白和分子发生一系列改变,最终导致机体发生凝血功能紊乱、过度炎症激活、血管渗漏等。

### 1 脓毒症血管内皮功能障碍

血管内皮细胞是覆盖于血管内腔表面的连续单层扁平鳞状上皮细胞,作为血管的一道屏障与血液中的各种细胞密切接触。脓毒症时,内皮细胞活化或损伤表现为以下几个方面:①凝血功能紊乱:内皮细胞活化导致组织因子(TF)表达增加,激活外源性凝血系统,并增加内皮细胞分泌的血管性血友病因子(vWF),促进凝血。同时,内皮细胞释放抗凝物质血栓调节蛋白(TM)、蛋白S、内皮蛋白C受体(EPCR)、组织因子途径抑制剂(TFPI)减少,其分泌纤溶蛋白原抑制剂-1(PAI-1)水平的减少,最终导致凝血功能障碍。②炎症反应过度活化:内皮释放白细胞介素(IL-8, IL-6, IL-1),肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )等细胞因子,并使内皮细胞表面黏附分子[如血管间黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(VCAM-1)]、选择素类等的表达增加,促进白细胞和单核细胞的黏附,加剧内皮炎症反应,进而加重内皮损伤。③血管舒缩反应异常:脓毒症时内皮分泌血管舒张物质一氧化氮和收缩物质内皮素-1(ET-1)增加,导致血管异常收缩和舒张,循环灌注不足等<sup>[2]</sup>。④内皮细胞成纤维样变:脂多糖(LPS)通过激活蛋白受体样激酶5(ALK5)下调CD31、内皮钙黏连蛋白等内皮标志物的表达,同时增加 $\alpha$ -肌动蛋白、成纤维细胞特异性蛋白-1(FSP-1)的表达,促进内皮成纤维细胞样转变,进一步加剧内皮功能障碍<sup>[3]</sup>。⑤通透性增加:在完整的脉管系统中内皮细胞起到一个连续的、半通透性的屏障作用,脓毒症中内皮细胞的一个核心特征是通透性增加及屏障功能丧失<sup>[4]</sup>,主要由于内皮细胞形态改变,细胞膜松散突起、排列异常、边界模糊造成内皮细胞从基底膜脱落,导致循环物质移位和内皮下水肿。

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.01.028

基金项目:军队“十二五”重点科研项目(BWS11J038)

通讯作者:梁华平, Email: 13638356728@163.com

### 2 内皮功能障碍的分子机制

**2.1 Janus 激酶信号转导和转录激活因子(JAK/STAT):**研究发现,IL-6呈时间依赖性磷酸化STAT3,活化的STAT3反过来启动IL-6介导的JAK/STAT信号转导,而JAK抑制剂能阻断STAT3、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)及磷酸化p38丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)的活化,减轻内皮损伤<sup>[5]</sup>。

**2.2 MAPK:**MAPK信号途径主要包括细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、p38MAPK。研究表明,LPS或TNF- $\alpha$ 通过p38MAPK信号通路上调微管相关蛋白-4(MAP4)的磷酸化及微管蛋白乙酰化,导致微管降解,血管通透性增加,最终导致血管屏障功能障碍<sup>[6]</sup>。Aird<sup>[7]</sup>研究发现MK-2(p38MAPK下游分子)缺失小鼠能够耐受LPS的打击,减少炎症因子TNF- $\alpha$ 的产生。研究发现,LPS还可以诱导p38MAPK上游信号分子凋亡信号调节激酶-1(ASK1)与p38MAPK磷酸化,上调内皮TF mRNA的表达<sup>[8-9]</sup>。此外,LPS还可以上调ERK1/2、Jun磷酸化水平,使其炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 产生增多,血管紧张素(Ang-1、Ang-2)比例失衡,内皮损伤加重<sup>[10-11]</sup>。

**2.3 NF- $\kappa$ B:**Yang等<sup>[12]</sup>在人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs)中发现,TNF- $\alpha$ 通过活化NF- $\kappa$ B,使其核转录增加,黏附分子和趋化因子产生增多,加重血管内皮细胞损伤。有学者发现,IL-6导致的内皮细胞通透性增加与活化NF- $\kappa$ B增强p65磷酸化有关<sup>[5, 13]</sup>。

**2.4 Ras 同源基因-Rho 相关螺旋卷曲蛋白激酶(Rho/ROCK):**有研究表明,LPS可以活化Rho上游的SRC原癌基因的蛋白质产物(pp60<sup>src</sup>),使血管内皮的钙黏蛋白、p120环联蛋白、 $\beta$ 环联蛋白等磷酸化,破坏细胞间的连接,增加血管通透性<sup>[14]</sup>。进一步研究发现,活化的Rho及其下游的ROCK可通过直接或间接方式使肌球蛋白轻链(MLC)磷酸化增加,肌动蛋白细胞骨架重排,内皮通透性增加<sup>[15]</sup>。

### 3 调节策略

#### 3.1 干预信号通路

**3.1.1 调节 Rho 信号通路:**Joshi等<sup>[15]</sup>发现热休克蛋白90(HSP90)抑制剂替拉替民(17-AAG)可抑制Rho上游的pp60<sup>src</sup>磷酸化,同时17-AGG还可抑制RhoA的活性及硝化作用,进而减少下游分子MLC的磷酸化,改善内皮通透性。有研究发现,Rho激酶选择性抑制剂(Y-27632)通过降低LPS

诱导的内皮细胞 MLC 磷酸化,改善内皮通透性<sup>[16]</sup>。也有研究发现 Rho 激酶抑制剂法舒地尔也能改善内皮通透性<sup>[17]</sup>。

**3.1.2 调节 NF- $\kappa$ B 信号通路:** Sun 等<sup>[18]</sup>的研究显示,利用微小 RNA-181b 靶向抑制 NF- $\kappa$ B 核转录所必需的蛋白(核转运蛋白- $\alpha$ 3),可减少内皮细胞 VCAM-1 和 E-选择素的表达,减少白细胞的募集,同时改善肺损伤。研究表明在盲肠结扎穿孔术(CLP)大鼠模型中,乌司他丁可通过抑制 NF- $\kappa$ B 的表达保护脓毒症大鼠血管内皮细胞功能<sup>[19]</sup>。

**3.1.3 调节 MAPK 信号通路:** Tham 等<sup>[20]</sup>发现姜黄素类似物 BHMC 可选择性抑制 p38MAPK,从而间接抑制 NF- $\kappa$ B 和激活蛋白-1(AP-1)的活化,减少炎症因子和黏附分子的产生,降低趋化分子的表达,减少白细胞经皮迁移,改善内皮功能。抗凝血酶-III 及血管紧张素转化酶抑制剂(卡托普利)通过抑制 ERK1/2、p38MAPK、JNK 磷酸化水平,下调 IL-6、TNF- $\alpha$  的表达,改善 LPS 诱导的大鼠肺内皮通透性<sup>[10-11]</sup>。

**3.2 受体靶向制剂:** Aman 等<sup>[21]</sup>发现酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼可改善脓毒症诱导的内皮功能障碍,它通过抑制 Abi 相关激酶如精氨酸/Abi 相关蛋白 2(Arg/Abi2),增强 Rac1 活性及内皮细胞与细胞外基质的黏附作用,同时减少凝血酶和组胺释放,改善皮肤、肾脏、肺等血管的渗漏和水肿。Li 等<sup>[10]</sup>发现,卡托普利不仅可以抑制炎症因子的分泌,还可调节 Ang-1 和 Ang-2 的平衡,减轻内皮细胞损伤。早期研究发现,Ang-1 生长因子可作为脓毒症诱导微血管功能障碍的治疗药物,但因其体内蓄积以及半衰期短的特点未能在临床使用。近年来开发出了更稳定的 Ang-1 变体细胞外基质蛋白,可改善 LPS 诱导的血管大分子渗漏,增加组织灌注,改善内皮功能障碍,可作为脓毒症潜在的治疗药物,具有广泛的应用前景<sup>[22]</sup>。

**3.3 细胞治疗:** 间充质干细胞(MSC)属于多能干细胞,具有多向分化潜能、造血支持和促进干细胞植入、免疫调控和自我复制等特点。有学者发现, MSC 通过分泌一系列生长因子、细胞因子、脂质调节因子等,调节宿主炎症反应,改善肺泡清除率,维持内皮的完整性<sup>[23]</sup>。血管内皮祖细胞(EPC)是成熟血管内皮细胞的前体细胞,属于干细胞群体,在维持血管内皮细胞完整性中发挥重要作用。移植内皮祖细胞来改善内皮损伤成为目前研究的热点。研究表明,将内皮祖细胞移植到内毒素诱导的多器官功能衰竭(MOF)猪体内,可促进血管生成、重塑血流动力学,改善多器官功能障碍<sup>[24]</sup>。

**3.4 抗凝药物:** 研究表明,组织因子抑制剂(TFPI)通过抑制组织因子 VII 复合物和促纤维蛋白原 X 因子复合物的活性,在脓毒症早期抑制凝血酶的产生,对实验动物有显著的保护效应,但其保护效应在 I、II 期临床试验中却未得到证实<sup>[25]</sup>。肝素作为抗凝药被广泛应用于临床,研究表明,低剂量肝素可改善脓毒症患者高凝血状态,降低弥散性血管内凝血(DIC)和多器官功能障碍的发生率,降低病死率<sup>[26]</sup>。国内多学者研究结果表明,血必净可调节脓毒症患者凝血相关因子及黏附分子的表达,改善脓毒症凝血功能及预后<sup>[27-30]</sup>。

**3.5 他汀类药物:** 他汀类药物除具有降血脂作用外,还具有抗炎、改善内皮细胞功能、调节免疫功能、抑制诱导型一氧化氮

合酶(iNOS)活性及减少氧化应激,从而对脓毒症时血管内皮功能障碍有一定保护作用。研究发现,他汀类药物可明显降低炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、硝酸盐及亚硝酸盐的水平,提高大鼠的存活率<sup>[31-32]</sup>。他汀类药物除了能调节内皮型 NOS(eNOS)与 iNOS 的 mRNA 水平外,还能在转录后修饰水平改变蛋白质表达,调节 eNOS 和 iNOS 平衡<sup>[33]</sup>。

**3.6 维生素 C:** 维生素 C 在保护内皮功能障碍中发挥着重要的作用,其通过多种方式作用于内皮细胞来维持血管床稳定,主要包括增加 IV 型胶原酶在基底膜中的合成与降解,刺激内皮细胞的增殖,抑制内皮细胞凋亡,清除自由基及调节循环血液中 eNOS 的缺乏等<sup>[34]</sup>。

**3.7 中药单体:** 姜黄素可降低内皮高通透性,抑制白细胞与内皮黏附、单核跨内皮移行,以及 ICAM-1、VCAM-1 蛋白的表达及趋化因子(MCP-1)转录因子水平,改善内皮功能;姜黄素还可通过选择性抑制 p38MAPK,直接抑制 NF- $\kappa$ B 活化和激活物活化蛋白-1 转录因子水平,改善内皮功能<sup>[20]</sup>。白芦藜醇具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、抑制血小板凝集等作用。研究发现,白芦藜醇可以抑制炎症反应,下调内毒素诱导的内皮细胞通透性的增强,改善内皮功能<sup>[35]</sup>。

**3.8 其他药物:** 最新研究表明载脂蛋白 A-I 模拟肽 4F 可抑制血管炎症反应,增强血管屏障功能,保护肾脏、心脏内皮功能<sup>[36]</sup>。镇静药右美托咪定可降低白细胞与内皮的相互作用,改善毛细血管灌注不足,改善微血管功能障碍<sup>[37]</sup>。Liu 等<sup>[38]</sup>发现草木犀乙醇提取物可以抑制 NF- $\kappa$ B 及 VEGF 的表达,可作为改善内皮功能损伤的有效措施。有研究者发现重组人促红细胞生成素、盐酸戊乙奎醚等其他药物也可以改善脓毒症诱导的内皮功能障碍<sup>[39-40]</sup>,其临床疗效还有待证实。

#### 4 展望

内皮损伤是导致微循环功能障碍最主要的环节,同时也是脓毒症主要的病理基础。脓毒症诱导的内皮功能研究存在的问题:①血管内皮细胞存在组织特异性,不同组织中其生理特性及功能有所不同,而目前对于脓毒症诱导的内皮功能的研究主要限于肺、脑、肾脏等,其他组织器官的研究较少。②脓毒症诱导的内皮损伤机制还有待深入研究。③目前脓毒症诱导内皮损伤的药物针对性较差;针对上述问题寻求更有效的针对内皮损伤的调节策略,对于逆转内皮功能障碍及脓毒症预后具有指导意义。

#### 参考文献

- [1] Koh IH, Menchaca-Diaz JL, Koh TH, et al. Microcirculatory evaluation in sepsis: a difficult task [J]. Shock, 2010, 34(Suppl 1): 27-33.
- [2] Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, et al. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis [J]. Intensive Care Med, 2010, 36(8): 1286-1298.
- [3] Echeverria C, Montorfano I, Sarmiento D, et al. Lipopolysaccharide induces a fibrotic-like phenotype in endothelial cells [J]. J Cell Mol Med, 2013, 17(6): 800-814.
- [4] 章志丹, 马晓春. 脓毒症血管内皮细胞损伤与微循环功能障碍 [J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23(2): 125-128.
- [5] Birukova AA, Tian Y, Meliton A, et al. Stimulation of Rho signaling by pathologic mechanical stretch is a "second hit" to

- Rho-independent lung injury induced by IL-6 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(9): L965-975.
- [ 7 ] Li L, Hu J, He T, et al. P38/MAPK contributes to endothelial barrier dysfunction via MAP4 phosphorylation-dependent microtubule disassembly in inflammation-induced acute lung injury [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8895.
- [ 8 ] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome [J]. *Blood*, 2003, 101(10): 3765-3777.
- [ 9 ] Mizumura K, Gon Y, Kumasawa F, et al. Apoptosis signal-regulating kinase 1-mediated signaling pathway regulates lipopolysaccharide-induced tissue factor expression in pulmonary microvasculature [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(9): 1062-1067.
- [ 10 ] 梁英健, 马晓春, 李鑫. p38 丝裂素活化蛋白激酶 / 核转录因子- $\kappa$ B 转导通路在脓毒症所致内皮细胞凝血功能障碍中的作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2010, 22(9): 528-532.
- [ 11 ] Li Y, Zeng Z, Li Y, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury by regulating the balance between angiotensin-converting enzyme and angiotensin-converting enzyme 2 and inhibiting mitogen-activated protein kinase activation [J]. *Shock*, 2015, 43(4): 395-404.
- [ 12 ] Sun HM, Hong LZ, Shen XK, et al. Antithrombin-III without concomitant heparin improves endotoxin-induced acute lung injury rats by inhibiting the activation of mitogen-activated protein kinase [J]. *Chin Med J*, 2009, 122(20): 2466-2471.
- [ 13 ] Yang RC, Chang CC, Sheen JM, et al. *Davallia bilabiata* inhibits TNF- $\alpha$ -induced adhesion molecules and chemokines by suppressing IKK/NF- $\kappa$ B pathway in vascular endothelial cells [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(6): 1411-1429.
- [ 14 ] Guo F, Xing Y, Zhou Z, et al. Guanine-nucleotide exchange factor H1 mediates lipopolysaccharide-induced interleukin 6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  expression in endothelial cells via activation of nuclear factor  $\kappa$ B [J]. *Shock*, 2012, 37(5): 531-538.
- [ 15 ] Hu G, Minshall RD. Regulation of transendothelial permeability by Src kinase [J]. *Microvasc Res*, 2009, 77(1): 21-25.
- [ 16 ] Joshi AD, Dimitropoulou C, Thangjam G, et al. Heat shock protein 90 inhibitors prevent LPS-induced endothelial barrier dysfunction by disrupting RhoA signaling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(1): 170-179.
- [ 17 ] Bogatcheva NV, Zemskova MA, Poirier C, et al. The suppression of myosin light chain (MLC) phosphorylation during the response to lipopolysaccharide (LPS): beneficial or detrimental to endothelial barrier? [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(12): 3132-3146.
- [ 18 ] Suzuki K, Nemoto K, Ninomiya N, et al. Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, attenuates lipopolysaccharide-induced vascular hyperpermeability and colonic muscle relaxation in guinea pigs [J]. *J Surg Res*, 2012, 178(1): 352-357.
- [ 19 ] Sun X, He S, Wara AK, et al. Systemic delivery of microRNA-181b inhibits nuclear factor- $\kappa$ B activation, vascular inflammation, and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 32-40.
- [ 20 ] 俞兆希, 石松菁, 沈阳辉. 乌司他丁对脓毒症大鼠血管内皮细胞功能保护作用研究 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2013, 27(10): 968-969, 972.
- [ 21 ] Tham CL, Hazeera Harith H, Wai Lam K, et al. The synthetic curcuminoid BHMC restores endotoxin-stimulated HUVEC dysfunction: Specific disruption on enzymatic activity of p38 MAPK [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 749: 1-11.
- [ 22 ] Aman J, van Bezu J, Damanafshan A, et al. Effective treatment of edema and endothelial barrier dysfunction with imatinib [J]. *Circulation*, 2012, 126(23): 2728-2738.
- [ 23 ] Alfieri A, Watson JJ, Kammerer RA, et al. Angiopietin-1 variant reduces LPS-induced microvascular dysfunction in a murine model of sepsis [J]. *Crit Care*, 2012, 16(5): R182.
- [ 24 ] Mei SH, McCarter SD, Deng Y, et al. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiopoietin 1 [J]. *PLoS Med*, 2007, 4(9): e269.
- [ 25 ] Tianhang L, Bo W, Zhengmao L, et al. Autologous transplantation of endothelial progenitor cells to prevent multiple organ dysfunction syndromes in pig [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 74(2): 508-515.
- [ 26 ] Laterre PF, Opal SM, Abraham E, et al. A clinical evaluation committee assessment of recombinant human tissue factor pathway inhibitor (tifacogin) in patients with severe community-acquired pneumonia [J]. *Crit Care*, 2009, 13(2): R36.
- [ 27 ] Liu XL, Wang XZ, Liu XX, et al. Low-dose heparin as treatment for early disseminated intravascular coagulation during sepsis: A prospective clinical study [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 7(3): 604-608.
- [ 28 ] 耿平, 夏仲芳, 顾健, 等. 血必净注射液对严重脓毒症患者早期高凝状态的干预作用 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(6): 346-349.
- [ 29 ] 李春盛, 金铭, 武军元, 等. 血必净对严重脓毒症患者血管内皮细胞相关促炎因子和凝血因子的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2009, 89(39): 2744-2747.
- [ 30 ] 唐丽群, 彭娜, 潘志国, 等. 血必净注射液对严重脓毒症患者凝血指标及预后的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19(3): 132-136.
- [ 31 ] 陈森, 费爱华, 路薇薇, 等. 血必净治疗脓毒症的疗效及对血小板内皮细胞黏附分子-1 和凝血功能影响的研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2012, 21(11): 1156-1158.
- [ 32 ] Giusti-Paiva A, Martinez MR, Felix JV, et al. Simvastatin decreases nitric oxide overproduction and reverts the impaired vascular responsiveness induced by endotoxic shock in rats [J]. *Shock*, 2004, 21(3): 271-275.
- [ 33 ] Ando H, Takamura T, Ota T, et al. Cerivastatin improves survival of mice with lipopolysaccharide-induced sepsis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 294(3): 1043-1046.
- [ 34 ] Bommhardt U, Chang KC, Swanson PE, et al. Akt decreases lymphocyte apoptosis and improves survival in sepsis [J]. *J Immunol*, 2004, 172(12): 7583-7591.
- [ 35 ] May JM, Harrison FE. Role of vitamin C in the function of the vascular endothelium [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(17): 2068-2083.
- [ 36 ] Chen L, Yang S, Zumbun EE, et al. Resveratrol attenuates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by suppressing inflammation driven by macrophages [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(5): 853-864.
- [ 37 ] Moreira RS, Irigoyen M, Sanches TR, et al. Apolipoprotein A-I mimetic peptide 4F attenuates kidney injury, heart injury, and endothelial dysfunction in sepsis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2014, 307(5): R514-524.
- [ 38 ] Miranda ML, Balarini MM, Bouskela E. Dexmedetomidine attenuates the microcirculatory derangements evoked by experimental sepsis [J]. *Anesthesiology*, 2015, 122(3): 619-630.
- [ 39 ] Liu MW, Su MX, Zhang W, et al. Effect of *Mellilotus suaveolens* extract on pulmonary microvascular permeability by downregulating vascular endothelial growth factor expression in rats with sepsis [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(5): 3308-3316.
- [ 40 ] Zhan J, Xiao F, Li JJ, et al. Penhexyclidine hydrochloride decreases pulmonary microvascular permeability by upregulating beta arrestins in a murine cecal ligation and puncture model [J]. *J Surg Res*, 2015, 193(1): 391-398.
- [ 41 ] Souza AC, Volpini RA, Shimizu MH, et al. Erythropoietin prevents sepsis-related acute kidney injury in rats by inhibiting NF- $\kappa$ B and upregulating endothelial nitric oxide synthase [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(8): F1045-1054.

(收稿日期: 2015-05-05) (本文编辑: 邸美仙 李银平)