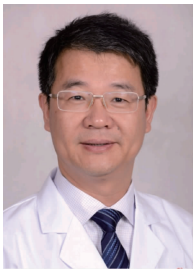
脓毒症血管内皮细胞屏障损害研究进展

卢中秋　倪菁晶



〔作者简介〕 卢中秋，急诊医学博士、二级教授、主任医师、博士生导师和博士后导师，目前担任温州医科大学急诊医学研究所所长、温州医科大学第一临床医学院（信息与工程学院）执行院长、温州医科大学附属第一医院副院长、急诊医学中心主任。享受国务院政府特殊津贴，全国五一劳动奖章获得者，浙江省劳动模范。浙江省高校中青年学科带头人，获得第一届“生命卫士”中国急诊医师奖。浙江省高校重点学科、浙江省医学创新学科、浙江省中医药重点学科、浙江省“十三五”中医药重点专科（急诊科）负责人。担任中国急诊专科医联体副主席 、中国医师协会急诊医师分会副会长兼急诊中毒学主任委员、中华医学会急诊医学分会委员兼中毒学组副组长等学术职务。国家自然科学基金项目评审专家。先后主持国家自然科学基金资助项目（面上项目）3 项、国家科技部重大专项子项目 1 项、国家卫生健康委员会（原卫生部）科研基金资助项目 2 项及浙江省科技计划项目、浙江省自然科学基金重点项目等 14 项。以第一或通讯作者身份发表学术论文 350 余篇，其中 SCI 收录论著 42 篇。参编《急诊与灾难医学》、《急诊医学》等规划教材及专著 20 余部。

摘　要　脓毒症是指宿主对感染引起的危及生命的器官功能失调。脓毒症发病机制复杂，本文主要总结了内皮细胞屏障完整性在脓毒症中的改变及研究进展。血管内皮连接障碍与糖萼被降解是脓毒症血管内皮细胞屏障损害的关键特征。血管内皮细胞的结构物质动态改变，释放入血作为生物学标志物，针对内皮细胞完整性的生物学标志物可以作为脓毒症早期诊断和预后指标，为脓毒症诊断治疗提供新的思路。

关键词　脓毒症　血管内皮细胞　生物学标志物

中图分类号　R363　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2020.10.002

脓毒症是由感染引起的病理生理综合征，而不是一种具体的疾病，被定义为宿主对感染反应失调引起的器官功能障碍，是全世界 ICU 患者最常见的死亡原因之一[1]。渐进性器官功能障碍是脓毒症的标志，内皮系统可以被视为一个最大和最重要的器官，如果没有内皮系统，血液流变学、凝血和器官灌注就会严重受损[2]。此外，研究发现，脓毒症中存在血管内皮细胞屏障功能的下降或丧失，导致循环物质（如体液和炎性因子等）移位，是引起循环血容量下降、组织器官水肿和损伤的重要因素[3]。因此，越来越多的研究表明，内皮细胞的激活和损伤在脓毒症发生、发展过程中发挥重要作用，内皮细胞生物学标志物作为指标或作为内皮细胞活化和功能的替代标志物也呈现出不同的意义[4]。因此，对脓毒症血管内皮细胞屏障损害的病理生理学过程深入分析，探索有效的评估指标和治疗靶点，对于治疗脓毒症，改善脓毒症的预后具有重要的理论和实践意义。

一、血管内皮细胞生理基础及在脓毒症中血管内皮细胞屏障损害

1. 血管内皮细胞生理基础单层内皮细胞、基膜、管腔的胞外基质和糖萼共同组成血管屏障，主要控制血管内外溶质和液体的运动，调节血液与组织之间的通透性，同时又由腔外的周细胞或一层平滑肌调节血管的压力和血流，当周围环境和条件发生变化时，糖萼、基膜及周细胞产生信号改变，血管内皮细胞接收信号做出相应的生理或病理反应[5]。血管内皮屏障由跨细胞通路和细胞旁通路介导，在这里，笔者关注的是细胞旁通路的调控，它是由相邻细胞间的内皮细胞接触和表面的糖萼层来维持的，这是炎症的主要通路[6]。

糖萼是位于内皮细胞顶面的复杂网状结构，在调

基金项目：国家自然科学基金资助项目（81571937，81772112）；浙江省医药卫生重大科技计划项目（WKJ－ZJ－1724）；浙江省医学创新学科计划项目（11－CX26）；浙江省“十三五”中医药重点专科（急诊科）建设项目

作者单位：325000　温州医科大学附属第一医院急诊医学中心

通讯作者：卢中秋，电子信箱：lzq640815@163.com；倪菁晶，电子信箱：njj06265325@163.com

节微血管张力和血管通透性中具有重要作用,是维持内皮屏障,调节白细胞迁移和抑制血栓形成的物质基础。糖萼厚 0.5 ~ 10.0mm,主要由蛋白聚糖、葡萄糖胺聚糖(GAG)侧链、糖蛋白和一些血浆蛋白组成,蛋白聚糖最突出的成分主要是多配体聚糖(syndecans)。最常见的 GAG 有硫酸乙酰肝素(heparan sulfate,HS)、硫酸软骨素(chondroitin sulfate,CS)和透明质酸(hyaluronan,HA),蛋白聚糖与 GAG 侧链通过共价键相连,共同覆盖在内皮细胞在管腔侧,维持内皮的稳定[7]。

血管内皮细胞间的连接结构分为 3 类,即黏附连接、紧密连接和缝隙连接,这些连接复合体在组织的完整性、血管通透性、白细胞渗出和血管生成中起着重要作用[8]。

紧密连接是两个细胞间紧密相连的区域,常位于内皮细胞连接顶部。负责调节细胞通透性和维持细胞极性,由跨膜区和胞内分子组成,跨膜蛋白包括封闭蛋白(OCLN)、闭合蛋白(CLDN)、交界黏附分子(JAM)及相关分子等,这些蛋白通过它们的胞质尾巴,通过闭锁小带(ZO)锚定到肌动蛋白的细胞骨架上,共同调节紧密连接的稳定性,信号转导及跨膜蛋白的动态改变[8,9]。黏附连接多位于紧密连接下方,介导细胞黏附和细胞内信号传递。血管内皮钙黏蛋白(VE - cadherin)是黏附连接中主要的跨膜蛋白,通过和胞内的胞质蛋白(如 α - catenin、β - catenin、γ - catenin 等)、ZO - 1 及肌动蛋白、微丝、微管组成网状结构,引起细胞骨架结构的变化,导致内皮细胞的变形,从而调控细胞的渗出。VE - cadherin 是黏附连接中最具特征性的表达,但除了 VE - cadherin 之外,还有 N - cadherin、P - cadherin、T - cadherin 发挥不同的重要作用[10]。而缝隙连接是内皮细胞间的膜通道,允许离子和小分子物质(< 1kDa)通过,是相邻细胞间细胞通讯方式之一[11]。

2. 脓毒症中血管内皮细胞屏障损害血管内皮细胞屏障功能以及转运溶质的作用很大程度上取决于内皮细胞连接和糖萼的完整性。血管内皮连接障碍与糖萼被降解是脓毒症的关键特征。在严重脓毒症和感染性休克时,会引起宏观和微循环的改变,改变器官的灌注,导致细胞缺氧,从而导致器官功能障碍[12]。糖萼在生理状态下其结构和成分都保持完整,在 TNF - α、氧化脂蛋白、脂多糖、缺血/再灌注、高血糖及炎症刺激等病理因素作用下,糖萼发生降解脱落。有实验研究表明,内皮细胞糖萼在脂多糖、TNF - α 暴露下其厚度和完整性都有所下降[13]。在脓毒症发生过程中,促炎性细胞因子常活化肥大细胞,促使肥大细胞脱颗粒,进一步释放细胞因子、组胺、蛋白酶、肝素酶等降解糖萼组分,破坏内皮糖萼,使内皮细胞的通透性发生改变。另一方面糖萼脱落,暴露整合素和选择素导致白细胞黏附渗出增加,内皮和组织发生炎症损伤,增加血管通透性使渗出液、白蛋白等溶质进入细胞间质,加重组织水肿[7]。

血管内皮细胞连接在脓毒症中的病理改变机制较为复杂,VE - cadherin 被认为是控制内皮屏障完整性和维持的主要黏附蛋白。脓毒症时炎性细胞或炎性因子主要通过 VE - cadherin 改变内皮细胞的通透性,VE - cadherin/连环蛋白/肌动蛋白细胞骨架之间的结构完整性在维持血管内皮屏障的紧密性方面起着至关重要的作用。笔者总结了 VE - cadherin 调控内皮细胞与细胞黏附和内皮屏障的 4 条主要途径:VE - cadherin 及其连接蛋白的磷酸化、VE - cadherin 和肌动蛋白的重构、VE - cadherin 的内化和细胞外区 VE - cadherin 的裂解,在脓毒症中 VE - cadherin 本身和相关的钙黏蛋白复合物的解体,或应力纤维的形成伴随着肌动蛋白 - 肌球蛋白的收缩增加了内皮通透性[14, 15]。除了直接针对 AJs,一些细胞因子如 TNF - α、IL - 1β 和 VEGF 通过影响 TJs 蛋白表达和分布如 CLDN - 5、ZO - 1 和 OCLN 而导致血管内皮渗漏增加。另外许多研究表明,在内皮细胞中,紧密连接与黏附连接相关并在功能上相互作用,ZO - 1 被认为是一种跨膜蛋白和细胞质蛋白之间的支架蛋白,除了将紧密连接的跨膜蛋白 OCLN 和 CLDN 连接到肌动蛋白细胞骨架外,可能也是连接黏附分子和紧密连接的纽带,ZO - 1 可以调节作用于基于 VE - cadherin 的黏附连接[16]。事实上,脓毒症几乎影响内皮细胞功能的各个方面,被认为是从败血症到器官衰竭进展的关键因素,而且各个方面相互作用、相互影响[17]。

二、血管内皮细胞生物学标志物血管内皮细胞的结构

血管内皮细胞生物学标志物血管内皮细胞的结构是动态改变的,其蛋白组成信号通路可以被快速激活和失活。当内皮细胞受到各种刺激时,特定的蛋白通过多种调节机制改变其数量、结构以及部位,调节内皮细胞连接结构与功能的完整性,同时释放内皮细胞连接中的结构物质[18]。释放入血的内皮连接结构物质可以作为生物学标志物,检测这些生物学标志物的浓度与出现的时间,有助于脓毒症的诊断、评估与

治疗。

Endocan、HS、HA 和 syndecan－1 脓毒症时蛋白酶、肝素酶等降解糖萼组分，破坏内皮糖萼，糖萼被分解产生 Endocan、HS、HA 和 syndecan－1 等成分，这些分解物质的水平在脓毒症休克患者血清中明显增加，与病死率及脓毒症严重程度相关。Endocan 是一种可溶性内皮蛋白多糖，在 150 例脓毒症或脓毒性休克患者中，Endocan 血浆水平对脓毒症和脓毒性休克患者的诊断具有很高的预测价值[19]。研究发现，脓毒症患者血液中 HA 和 syndecan－1 水平高于健康对照组，且未存活的脓毒症患者 syndecan－1 水平较高[20, 21]。另外研究发现，脓毒性休克患者尿液中的 HS 和 HA 水平明显高于创伤住院患者，HS 和 HA 在未存活的脓毒症患者中显著升高[22]。这些糖萼降解标志物作为内皮细胞屏障损伤的靶标志物有望成为脓毒症诊断的工具。

OCLN 和 ZO－1 在脑血管意外等疾病中发现，血浆血管内皮细胞紧密连接蛋白水平与血管通透性改变和疾病的预后密切相关，其可作为一种可靠的标志物用于反映血管内皮的屏障功能状态[23]。近年来研究发现，血浆紧密连接蛋白水平与脓毒症患者的病情严重程度和临床转归呈正相关。OCLN 和 ZO－1 水平可以作为脓毒症的临床疗效及预测，研究表明，血清 ZO－1、OCLN 水平是判断脓毒症患者是否发展为 MODS 或更坏结局事件有用的生物学标志物。OCLN 和 ZO－1 与 PCT 比较具有更好的预后价值，且其水平在判断脓毒症患者医院死亡风险具有重要作用[24]。

sVE－cadherin 和 AAVEsVE－cadherin 被认为在维持内皮细胞的完整性和内皮细胞连接的接触稳定性起重要作用[25]。在炎症过程中，血管内皮细胞 VE－cadherin 的胞外结构域可以被切割为可溶性 VE－cadherin（sVE－cadherin）进入循环[26]。研究发现，sVE－cadherin 水平在严重脓毒症中明显增加，且与脓毒症病死率呈正比，除此之外，sVE－cadherin 水平随着患者状态恢复水平下降，证明 sVE－cadherin 水平与脓毒症的发展进程相关[27, 28]。最新的一项研究表明，sVE－cadherin 水平还与脓毒症患者急性肾损伤和更严重的器官功能障碍有关[29]。另外，人类 VE－cadherin 自身抗体（AAVEs）为针对内皮细胞的胞外结构域产生的抗体，增加血管的通透性，也可以作为一种新的生物学标记[30]。

三、展　　望

脓毒症的诊断是一个挑战。临床和标准的实验室检查有很大的局限性，因为对于大多数危重患者，无论他们是否有脓毒症都有一定程度的炎性反应。即使微生物评估也是不可靠的，因为许多血样本并不能培养出微生物。脓毒症的治疗也是一个挑战，基于炎性因子拮抗治疗并未取得成效，针对内皮细胞的治疗，尤其是针对内皮细胞屏障的治疗也许将存在巨大的潜在空间。另一方面，目前只有相对较少的生物学标志物被评估为临床诊断标志物，针对内皮细胞完整性的生物学标志物与传统标志物组和搭配检测也许有望提高诊断的敏感度和特异性，为脓毒症的早期诊断带来重要意义。同时内皮细胞生物学标志物的特异靶向药物和促进保持内皮细胞完整性的治疗也可能成为一个新的研究方向。

参考文献

1　Cecconi M, Evans L, Levy M, *et al*. Sepsis and septic shock[J]. Lancet, 2018, 392(10141): 75－87

2　Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? [J]. Biomarkers, 2011, 16(sup 1): S11－S21

3　Radeva MY, Waschke J. Mind the gap: mechanisms regulating the endothelial barrier[J]. Acta Physiol (Oxf), 2018, 222(1): e12860

4　Leligdowicz A, Richard－Greenblatt M, Wright J, *et al*. Endothelial activation: the ang/tie axis in sepsis[J]. Front Immunol, 2018, 9: 838

5　Kottke MA, Walters TJ. Where's the leak in vascular barriers? a review[J]. Shock, 2016, 46(3): 20－36

6　Wettschureck N, Strilic B, Offermanns S. Passing the vascular barrier: endothelial signaling processes controlling extravasation[J]. Physiol Rev, 2019, 99(3): 1467－1525

7　Joffre J, Hellman J, Ince C, *et al*. Endothelial responses in sepsis[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2020, 202(3), doi: 10. 1164/rccm. 201910－1911772

8　Wallez Y, Huber P. Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1778(3): 794－809

9　Díaz－Coránguez M, Liu X, Antonetti DA. Tight junctions in cell proliferation[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 5972

10　Lampugnani MG, Dejana E, Giampietro C. Vascular endothelial (ve)－cadherin, endothelial adherens junctions, and vascular disease[J]. Cold Spring Harbor Perspect Biol, 2018, 10(10): a029322

11　Soon AS, Chua JW, Becker DL. Connexins in endothelial barrier function－novel therapeutic targets countering vascular hyperpermeability[J]. Thromb Haemost, 2016, 116(5): 852－867

12　Chelazzi C, Villa G, Mancinelli P, *et al*. Glycocalyx and sepsis－induced alterations in vascular permeability[J]. Crit Care (London, England), 2015, 19: 26

（下转第 11 页）

ceptor – positive (HR +), human epidermal growth factor receptor 2 – negative (HER2 –) advanced breast cancer (ABC) previously treated with cyclin – dependent kinase 4/6 inhibitor (CDKi) + aromatase inhibitor (AI): BYLieve study results[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(Suppl): 1006

5 Fabrice A, Eva C, Gabor R, *et al*. Alpelisib for PIK3CA – mutated, hormone receptor – positive advanced breast cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 380(20): 1929 – 1940

6 Richard S, John P, Istvan L, *et al*. The cyclin – dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first – line treatment of oestrogen receptor – positive, her2 – negative, advanced breast cancer (paloma – 1/trio – 18): a randomised phase 2 study[J]. Lancet Oncol, 2015, 16(1): 25 – 35

7 Richard S, Miguel M, Hope S, *et al*. Palbociclib and letrozole in advanced breast cancer[J]. N Engl J Med, 2016, 375(20): 1925 – 1936

8 Nicholas C, Dennis J, Jungsil R, *et al*. Overall survival with palbociclib and fulvestrant in advanced breast cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 379(20): 1926 – 1936

9 Dennis J, Patrick N, Stephen C, *et al*. Phase Ⅲ randomized study of ribociclib and fulvestrant in hormone receptor – positive, human epidermal growth factor receptor 2 – negative advanced breast cancer: MONALEESA – 3[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(24): 2465 – 2472

10 George W, Masakazu T, Patrick N, *et al*. MONARCH 2: abemaciclib in combination with fulvestrant in women with hr +/her2 – advanced breast cancer who had progressed while receiving endocrine therapy[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(25): 2875 – 2884

11 Antonio L, Jose M, Meritxell B, *et al*. PARSIFAL: a randomized, multicenter, open – label, phase II trial to evaluate palbociclib in combination with fulvestrant or letrozole in endocrinesensitivepatients with estrogen receptor (ER)[+]/HER2[–] metastatic breastcancer[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(Suppl): 1007

12 Seock A, Yen S, Aditya B, *et al*. Overall survival with ribociclib plus endocrine therapy in breast cancer[J]. N Engl J Med, 2019, 381(4): 307 – 316

13 Denise A, Arnd N, Yoon S, *et al*. Overall survival (OS) in patients (pts) with advanced breast cancer (ABC) with visceral metastases (mets), including those with liver mets, treated with ribociclib (RIB) plus endocrine therapy (ET) in the MONALEESA (ML) – 3 and – 7 trials[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(Suppl): 1054

(收稿日期: 2020 – 06 – 08)
(修回日期: 2020 – 06 – 09)

(上接第 6 页)

13 Wiesinger A, Peters W, Chappell D, *et al*. Nanomechanics of the endothelial glycocalyx in experimental sepsis[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e80905

14 Gavard J. Endothelial permeability and VE – cadherin: a wacky comradeship[J]. Cell Adh Migr, 2013, 7(6): 455 – 461

15 Rho SS, Ando K, Fukuhara S. Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin – mediated endothelial cell – cell junctions[J]. J Nippon Med School, 2017, 84(4): 148 – 159

16 Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1778(3): 660 – 669

17 Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, *et al*. The endothelium in sepsis[J]. Shock, 2016, 45(3): 259 – 270

18 McCole DF. Phosphatase regulation of intercellular junctions[J]. Tissue Barr, 2013, 1(5): e26713

19 Pauly D, Hamed S, Behnes M, *et al*. Endothelial cell – specific molecule – 1/endocan: diagnostic and prognostic value in patients suffering from severe sepsis and septic shock[J]. J Crit Care, 2016, 31(1): 68 – 75

20 Anand D, Ray S, Srivastava LM, *et al*. Evolution of serum hyaluronan and syndecan levels in prognosis of sepsis patients[J]. Clini Biochem, 2016, 49(10): 768 – 776

21 Ikeda M, Matsumoto H, Ogura H, *et al*. Circulating syndecan – 1 predicts the development of disseminated intravascular coagulation in patients with sepsis[J]. J Crit Care, 2018, 43: 48 – 53

22 Schmidt EP, Overdier KH, Sun X, *et al*. Urinary glycosaminoglycans predict outcomes in septic shock and acute respiratory distress syndrome[J]. Ame J Respirat Crit Care Med, 2016, 194(4): 439 – 449

23 Pan R, Yu K, Weatherwax T, *et al*. Blood occludin level as a potential biomarker for early blood brain barrier damage following ischemic stroke[J]. Sci Rep, 2017, 7: 40331

24 Zhao GJ, Li D, Zhao Q, *et al*. Prognostic value of plasma tight – junction proteins for sepsis in emergency department: an observational study[J]. Shock (Augusta, Ga), 2016, 45(3): 326 – 332

25 Giannotta M, Trani M, Dejana E. VE – cadherin and endothelial adherens junctions: active guardians of vascular integrity[J]. Dev Cell, 2013, 26(5): 441 – 454

26 Schulz B, Pruessmeyer J, Maretzky T, *et al*. ADAM10 regulates endothelial permeability and T – Cell transmigration by proteolysis of vascular endothelial cadherin[J]. Circ Res, 2008, 102(10): 1192 – 1201

27 Zhang RY, Liu YY, Li L, *et al*. Increased levels of soluble vascular endothelial cadherin are associated with poor outcome in severe sepsis[J]. J Int Med Res, 2010, 38(4): 1497 – 1506

28 Flemming S, Burkard N, Renschler M, *et al*. Soluble VE – cadherin is involved in endothelial barrier breakdown in systemic inflammation and sepsis[J]. Cardiov Res, 2015, 107(1): 32 – 44

29 Yu WK, McNeil JB, Wickersham NE, *et al*. Vascular endothelial cadherin shedding is more severe in sepsis patients with severe acute kidney injury[J]. Crit Care (London, England), 2019, 23(1): 18

30 Blaise S, Polena H, Vilgrain I. Soluble vascular endothelial – cadherin and auto – antibodies to human vascular endothelial – cadherin in human diseases: two new biomarkers of endothelial dysfunction[J]. Vasc Med (London, England), 2015, 20(6): 557 – 565

(收稿日期: 2020 – 05 – 11)
(修回日期: 2020 – 05 – 11)