

血栓调节蛋白在脓毒症中的研究进展

聂 宁 鲁 彦 王惠雨 李 斌 周 荣

摘 要 脓毒症是伴有高病死率的全身多器官功能障碍综合征,炎症反应失控和凝血功能障碍贯穿脓毒症发生、发展的全过程。内皮细胞是脓毒症炎症反应及凝血过程中重要的靶细胞及效应细胞,血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)是内皮细胞表面合成的抗凝因子,也是内皮细胞损伤的特异性生物学标志物之一。已有研究表明,TM 进入血液循环后成为可溶性血栓调节蛋白(soluble thrombomodulin, sTM)可以预测脓毒症的发生及预后,以 TM 为治疗靶点的新型抗凝药物重组人可溶性血栓调节蛋白(recombinant human soluble thrombomodulin, rhTM)可以降低脓毒症患者病死率。本文将综述 TM 在脓毒症中的研究进展,以期对脓毒症的诊断和治疗提供新思路。

关键词 血栓调节蛋白 脓毒症 研究进展

中图分类号 R44

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.07.038

脓毒症是机体对感染反应失调导致的威胁生命的多器官功能障碍综合征,我国脓毒症的发生率为 33.6%,病死率为 29.0%^[1]。早期诊断和及时干预是降低脓毒症病死率的关键,但由于脓毒症的发病机制尚未完全阐明,目前对脓毒症的诊疗方式及效果有限。血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)是一种内皮细胞膜糖蛋白,在保护内皮细胞、维持血管内稳态等方面具有重要作用,而内皮细胞是脓毒症发生时病原体和毒素主要的攻击靶点。在脓毒症发生时,TM 从受损的内皮细胞进入血液循环后成为可溶性血栓调节蛋白(soluble thrombomodulin, sTM)被检测到,可以作为脓毒症的新型生物学标志物。越来越多的研究表明,以 TM 为治疗靶点开发的新型抗凝药物重组人可溶性血栓调节蛋白(recombinant human soluble thrombomodulin, rhTM)可以有效改善脓毒症预后,为临床上治疗脓症患者提供了新的治疗策略^[2,3]。本文将重点从脓毒症与 TM 的相关研究进展进行综述,展望 TM 对脓毒症的诊疗前景。

一、TM 的结构、功能及表达

TM 是由 557 个氨基酸组成的 I 型跨膜蛋白,包含胞内区、跨膜区及胞外区 3 个部分^[4]。胞外区是 TM 的主要构成部分,由凝集素样结构域、6 个表皮生

长因子样结构域(epithelial growth factor-like domain, EGF-like domain)及丝氨酸-苏氨酸结构域组成,具有抗炎、抗凝及抗纤维蛋白酶溶解作用。跨膜区和胞内区分别由单次跨膜结构域以及胞质域组成,能改变上皮细胞形态,便于细胞迁移。由于包含多个结构域,TM 具有多种生物学功能,主要通过参与炎症反应、凝血过程和细胞增殖及分化在维持机体正常的生理功能方面发挥重要作用^[5]。TM 由单核-吞噬细胞、血管平滑肌细胞、肺泡上皮细胞、中性粒细胞和造血祖细胞等多种细胞合成,可在所有血管内皮细胞上表达,是血管内皮细胞稳态的重要调节因子^[5]。血管损伤相关性疾病,如脓毒症、病毒感染、恶性肿瘤、糖尿病、心血管疾病、弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)等均可引起受损的血管内皮细胞释放大量的 sTM 至血液,导致患者外周血 sTM 水平明显增加^[6]。

二、TM 在脓毒症中的作用

炎症反应失控和凝血功能障碍是脓毒症重要的发病机制,TM 作为炎症反应和凝血系统的重要调节蛋白,与脓毒症的发生、发展密切相关。

1. TM 减轻脓毒症炎症反应:高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1, HMGB1)作为一种典型的损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)在脓毒症炎症反应中至关重要^[7]。既往研究表明,TM 凝集素样结构域与 HMGB1 结合后抑制 HMGB1/Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)炎症信号通路发挥抗炎作用^[8]。近年来,研究者对

基金项目:甘肃省科技计划项目(20JR10RA711)

作者单位:730000 兰州大学第一临床医学院(聂宁、王惠雨);
730000 兰州,甘肃省人民医院临床检验中心(鲁彦);730000 兰州大学第一医院普外科(李斌),急诊科(周荣)

通信作者:李斌,电子信箱:rockybill@qq.com;周荣,电子信箱:zhouzong0204@163.com

TM 抗炎通路提出了一系列新的学说:(1)中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil traps, NETs)的发现使人们认识到损伤组织释放的 DAMPs 可诱导 NETs 的形成,从而加剧脓毒症全身炎症反应。TM 通过阻止 NETs 的形成降低脓毒症炎症细胞因子水平^[9]。(2)既往研究认为,TM 的 6 个 EGF-like domain 主要发挥抗凝作用,但新的研究发现其第 5 表皮生长因子样区与内皮细胞表达的 G 蛋白偶联受体 15(G protein-coupled receptor 15, GPCR15)结合后抑制 NF- κ B 发挥抗炎作用^[10]。(3)炎症脂质介质(lipidic medium, LMs)作为一种新发现的炎症细胞因子在脓毒症发病机制中发挥重要作用,TM 通过降低 LMs 水平来减轻脓毒症炎症反应^[11]。

2. TM 在脓毒症中的抗凝作用:血管内皮受损常导致全身微血管内血栓形成,这是脓毒症发生、发展的重要病理特征之一^[12]。TM 发挥抗凝作用能抑制脓毒症患者血栓形成。经典的抗凝通路包括依赖蛋白 C(protein C, PC)途径及非依赖 PC 途径^[13]。TM 作为抗凝活性糖蛋白直接抑制凝血酶活性^[14]。此外,TM 与凝血酶结合后激活 PC 转化为活化蛋白 C(activated protein C, APC)直接灭活凝血因子 V 和 VIII,减少凝血酶活化,同时抑制凝血系统的放大,使凝血反应减弱^[14]。已有研究证实,NETs 是一种新型的先天气免疫反应,由含有组蛋白、中性粒细胞丝氨酸蛋白酶等颗粒蛋白的 DNA 细丝组成,参与凝血激活^[9]。TM 可通过限制 NETs 的形成来抑制脓毒症相关的免疫血栓形成^[15]。

三、TM 在脓毒症中的预测价值

在脓毒症发生的初始阶段,大量 TM 因内皮细胞损伤被中性粒细胞弹性蛋白酶裂解后成为 sTM 释放至血液。因此,sTM 可以作为脓毒症早期诊断和预后判断的新型生物学标志物。

1. sTM 用于早期预测脓毒症的发生:对于可疑性脓毒症患者,早期预测脓毒症的发生是降低患者病死率的关键。一项观察性研究比较了 179 例脓毒症患者和 125 例非脓毒症重症监护病房(intensive care unit, ICU)患者的 sTM 水平,发现脓毒症组的 sTM 水平明显高于非脓毒症组,表明 sTM 能够早期识别脓毒症患者^[16]。“脓毒症 3.0”的提出强调了凝血及器官功能障碍是脓毒症患者预后不良的主要原因,但有 20%~30% 的患者入院时未表现出明显的凝血及器官功能障碍症状^[17]。已有研究证实,sTM 能预测脓毒症相关凝血病(sepsis-associated coagulopathy,

SAC)的发生,受试者工作特征曲线分析表明,sTM 较 D-二聚体具有更好的诊断 SAC 能力,两者的曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为 0.864 和 0.775^[16]。Katayama 等^[18]研究检测了多种生物学标志物对脓毒症相关肾损伤发生的预测作用,通过多变量 Logistic 回归分析表示 sTM 是脓毒症相关肾损伤的早期独立预测因子。脓毒性休克是脓毒症进展的最危重阶段,伴有严重的循环功能障碍和代谢/细胞功能异常,病死率高达 50%。研究表明,sTM 预测脓毒性休克发生的敏感度为 80.2%,特异性为 88.9%,明显高于降钙素原(procalcitonin, PCT)、序贯性器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)和急性生理与慢性健康评分 II 等指标。因此,sTM 较传统的临床指标更具有优势,不仅可以早期诊断脓毒症,而且具有更好的脓毒症危险分层能力。

2. sTM 是脓毒症的预后生物学标志物:sTM 已经被证实与危重症患者的预后相关,而脓毒症恰恰是目前 ICU 中最常见的临床综合征。因此,sTM 可能是脓毒症的预后标志物。一项 ProCESS 临床试验发现,入院时及入院后 24h 的 sTM 水平均与脓毒症患者的 60 天病死率呈正相关,认为 sTM 是评估脓毒症患者预后的良好指标。然而,临床工作者对 sTM 的实际应用提出了质疑,他们更倾向于应用价格低廉的 SOFA 评分评估脓毒症患者预后。对此,Fang 等^[19]研究对比了 sTM 与 PCT、SOFA 评分对脓毒症预后的预测价值,表明 sTM 评估脓毒症预后的能力明显高于 PCT 及 SOFA 评分。此外,临床干预能影响患者预后,有研究发现,sTM 与干预治疗后脓毒症患者病情变化之间存在相关性,可以监测干预治疗对脓毒症预后的影响^[19]。多种生物学标志物联合评估脓毒症预后更准确、更全面。已有研究表明,sTM 联合脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP)判断预后的能力高于单一的 sTM 或 BNP(AUC 分别为 0.937、0.913、0.874)^[20]。综上所述,sTM 对脓毒症具有较好的预后评估价值,临床上应综合考虑多种因素对预后的影响,动态监测 sTM 水平可以检验临床治疗策略对脓毒症的疗效。

四、TM 作为脓毒症的治疗靶点

在发生脓毒症时,炎症反应失控和凝血功能紊乱相互作用可导致 SAC 和脓毒症相关器官功能障碍的发生,以 TM 为治疗靶点开发的新型抗凝药物 rhTM 主要通过重建血栓调节蛋白/活化蛋白 C 系统维持凝血功能正常,对脓毒症患者具有一定的保护作用。

1. rhTM 治疗 SAC:rhTM 在日本上市后主要用于

弥漫性血管内凝血的临床治疗,目前已有临床研究将 rhTM 用于 SAC 的治疗,并取得了阶段性的成功。日本的一项多中心、回顾性研究表明,采用 $0.06\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ rhTM,连续 6 天的治疗能显著降低 SAC 患者的病死率。美国的一项临床 2B 期试验也证实了 rhTM 治疗 SAC 的有效性及安全性。但最新的美国 SCARLET 随机临床试验发现, rhTM 治疗组及安慰剂组的 28 天全因病死率分别为 26.8% 及 29.4%,差异无统计学意义 ($P=0.32$),表明了 rhTM 对 SAC 患者并没有治疗作用^[21]。这可能是由于脓毒症作为一种临床异质性疾病,不同的脓毒症表型对 rhTM 的治疗反应各不相同。Kudo 等^[22]将 3694 例脓毒症患者分为 dA、dB、dC 及 dD 4 组临床表型, dA 组及 dB 组患者病情危重伴有重度及中度凝血病, dC 组患者病情中度伴有轻度凝血病, dD 组患者病情轻且无凝血病。研究提示, rhTM 治疗 4 组患者的 28 天病死率及住院病死率之间存在差异, dA 组患者预后更好,更推荐重度 SAC 患者使用 rhTM^[22]。

2. rhTM 治疗脓毒症相关器官功能障碍:炎症反应失控及凝血功能紊乱是脓毒症相关器官功能障碍发生的重要机制^[5]。rhTM 可能是脓毒症相关器官功能障碍患者的有效干预措施。多项动物实验已经表明, rhTM 在脓毒症相关器官功能障碍的发生中具有一定的保护作用^[23,24]。rhTM 通过下调组蛋白 H3 水平减轻脓毒症小鼠肾脏局部炎症和细胞毒性,进而促进肾功能恢复。此外, rhTM 通过抑制脓毒症小鼠肺组织的炎症反应、细胞增殖/分化和糖萼合成,减弱了由内皮损伤引起的脓毒症相关急性呼吸窘迫综合征 (sepsis-associated acute respiratory distress syndrome, SARDS)^[24]。临床研究进一步证实 rhTM 可以改善脓毒症相关器官功能障碍患者的预后。脓毒症相关急性肾损伤的患者出院时 rhTM 治疗组对肾脏替代治疗的依赖性明显低于对照组, rhTM 治疗组患者的 28 天病死率显著降低,证实 rhTM 对脓毒症相关急性肾损伤患者具有一定保护作用^[2]。另一项研究表明, SARDS 患者中 rhTM 治疗组的 ICU 病死率及病死率 (22.1%、35.6%) 均低于对照组 (36.2%、49.7%),提示 SARDS 患者可以从 rhTM 治疗中获益^[3]。

五、展望

脓毒症的诊断和治疗是急危重症医学领域面临的重要临床问题,医学技术的进步使得脓毒症的早诊断、早治疗取得了重大进步。但由于脓毒症的病理生理机制尚未完全阐明,脓毒症的发生率和病死率仍

居高不下。TM 是内皮细胞表面的多功能跨膜糖蛋白,通过多种信号通路在脓毒症的发生、发展过程中发挥重要作用。TM 作为新的靶点为脓毒症的临床诊治提供了新思路。虽然目前 TM 在脓毒症中的具体作用机制尚未完全阐明,另外基于 TM 治疗的适应证、时间窗和安全性也需要进一步明确。但随着研究深入,上述有关 TM 的问题终将迎刃而解,未来以 TM 为靶点的新型诊疗策略将会更有效地服务于临床实践。

参考文献

- Liu YC, Yao Y, Yu MM, *et al.* Frequency and mortality of sepsis and septic shock in China: a systematic review and Meta-analysis [J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1): 564
- Akatsuka M, Masuda Y, Tatsumi H, *et al.* The effect of recombinant human soluble thrombomodulin on renal function and mortality in septic disseminated intravascular coagulation patients with acute kidney injury: a retrospective study [J]. J Intensive Care, 2020, 8(1): 94
- Yoshihiro S, Sakuraya M, Hayakawa M, *et al.* Recombinant human-soluble thrombomodulin contributes to reduced mortality in sepsis patients with severe respiratory failure: a retrospective observational study using a multicenter dataset [J]. Shock, 2019, 51(2): 174-179
- Dittman WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant [J]. Blood, 1990, 75(2): 329-336
- Loghmani H, Conway EM. Exploring traditional and nontraditional roles for thrombomodulin [J]. Blood, 2018, 132(2): 148-158
- Nguyen TS, Lapidot T, Ruf W. Extravascular coagulation in hematopoietic stem and progenitor cell regulation [J]. Blood, 2018, 132(2): 123-131
- Carney EF. ABCF1 switches off inflammation in sepsis [J]. Nat Rev Nephrol, 2019, 15(5): 255
- Zhang X, Su C, Zhao S, *et al.* Combination therapy of Ulinastatin with Thrombomodulin alleviates endotoxin (LPS)-induced liver and kidney injury via inhibiting apoptosis, oxidative stress and HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13(2): 2951-2970
- Kato Y, Nishida O, Kuriyama N, *et al.* Effects of thrombomodulin in reducing lethality and suppressing neutrophil extracellular trap formation in the lungs and liver in a lipopolysaccharide-induced murine septic shock model [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4933
- Pan B, Wang X, Kojima S, *et al.* The fifth epidermal growth factor like region of thrombomodulin alleviates LPS-induced sepsis through interacting with GPR15 [J]. Thromb Haemost, 2017, 117(3): 570-579
- Ashina M, Fujioka K, Nishida K, *et al.* Recombinant human thrombomodulin attenuated sepsis severity in a non-surgical preterm mouse model [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 333
- Ito T, Kakuuchi M, Maruyama I. Endotheliopathy in septic conditions: mechanistic insight into intravascular coagulation [J]. Crit Care, 2021, 25(1): 95

(下转第 204 页)

四、建立多元化过程性考核体系

多元化的考核方式,也能提高学生学习医学免疫学的积极性及学习兴趣^[13,14]。与科研式教学过程一致,课程采用形成性评价与课终评价相结合的评价体系,考核方向着眼于理论基础知识和科研思维能力。其中,形成性考核除了课堂提问、随堂测验、期中测试、实验报告等评价形式,还组织学生绘制思维导图、布置综合性作业等。例如,在免疫应答章节教学完成后,布置学生自行选定章节,绘制章节思维导图,这有利于学生阶段性复习并培养学生整合信息,搭建知识框架的能力。又如,在理论课程结束后,结合近两年的新冠疫情,布置综合性作业:利用所学知识,并收集相关资料,从机体抗新冠病毒免疫、抗新冠疫苗及药物研发等方面,介绍目前所知的新冠病毒相关知识与研究进展。通过采用全过程全覆盖、科学的考核方式,可督促学生及时、高效地理解并运用所学知识,明显提高教学质量。

五、展 望

新世纪生命医学的飞速发展对医学生们提出了更高的要求。当前医学免疫学科研进展突飞猛进,在医学教育中的重要地位日趋显现。笔者探索了医学免疫学科研式教学新模式,在理论和实验教学过程中充分发挥科研的作用,促进了课程理论与前沿进展的融合,优化了课程体系,显著提升了医学生的科研思维 and 创新能力。与此同时,也敦促教师不仅要熟练掌握免疫学基本理论与框架,还要紧跟免疫学前沿进展,教研相长,不断进步。

(上接第 190 页)

- 13 Giri H, Panicker SR, Cai X, *et al.* Thrombomodulin is essential for maintaining quiescence in vascular endothelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(11): e2022248118
- 14 Palma Medina LM, Rath E, Jahagirdar S, *et al.* Discriminatory plasma biomarkers predict specific clinical phenotypes of necrotizing soft-tissue infections[J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(14): e149523
- 15 Watanabe - Kusunoki K, Nakazawa D, Ishizu A, *et al.* Thrombomodulin as a physiological modulator of intravascular injury[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 575890
- 16 Zhang J, Xue M, Chen Y, *et al.* Identification of soluble thrombomodulin and tissue plasminogen activator - inhibitor complex as biomarkers for prognosis and early evaluation of septic shock and sepsis - induced disseminated intravascular coagulation[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(10): 10170 - 10184
- 17 Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management[J]. *BMJ*, 2016, 353: i1585
- 18 Katayama S, Nunomiya S, Koyama K, *et al.* Markers of acute kidney injury in patients with sepsis: the role of soluble thrombomodulin[J]. *Crit Care*, 2017, 21(1): 229
- 19 Fang Y, Li C, Shao R, *et al.* The role of biomarkers of endothelial activation in predicting morbidity and mortality in patients with severe sepsis and septic shock in intensive care: a prospective observational

参考文献

- 1 李天亮,殷书磊,李楠,等. 科研讨论在医学免疫学教学中的应用[J]. *基础医学教育*, 2022, 24(1): 7 - 9
- 2 田志刚,曹雪涛. 免疫学领域的发展现状和未来挑战[J]. *科学观察*, 2014, 9(3): 33 - 36
- 3 朱波,霍如尉. 医学免疫学教学如何培养本科生的科研素养[J]. *河南大学学报: 医学版*, 2021, 40(5): 359 - 362
- 4 国家发展和改革委员会. “十四五”生物经济发展规划[EB/OL]. 中华人民共和国国家发展和改革委员会, 2022 - 05 - 10
- 5 国务院办公厅. “十四五”国民健康规划[EB/OL]. 中华人民共和国中央人民政府, 2022 - 05 - 20
- 6 MD Miguel, Calvo E. Clinical challenges of immune checkpoint inhibitors[J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(3): 326 - 333
- 7 吴林青,刘樑英,韩艳非,等. 基于科研素质培养的医学免疫学教学改革实践——以学术型研究生为对象[J]. *福建医科大学学报: 社会科学版*, 2020, 21(3): 47 - 51
- 8 雷爱华,陈超群,胡四海,等. 科研反哺临床医学专业医学免疫学教学的改革探索[J]. *基础医学教育*, 2019, 21(7): 508 - 510
- 9 吴优,包雪阳,沈传来. 基于树立科研理念的医学免疫学实验课程改革[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(12): 1513 - 1516, 1525
- 10 张园,王悦. 整合科研经验的医学免疫学教学实验[J]. *实验室科学*, 2016, 19(6): 26 - 27, 31
- 11 Ying HR, Ruan YX, Zeng ZS, *et al.* Iron oxide nanoparticles size - dependently activate mouse primary macrophages via oxidative stress and endoplasmic reticulum stress[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 105(4): 108533
- 12 Chen YJ, Zeng ZS, Ying HR, *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticles attenuate lipopolysaccharide - induced inflammatory responses through modulation of toll - like receptor 4 expression[J]. *J Appl Toxicol*, 2020, 40(8): 1067 - 1075
- 13 蒋丽娜,安康,唐玉红,等. 将科研融入医学免疫学教学的探索与研究[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2018, 16(22): 40 - 41
- 14 王建平,赵学荣,高亚贤,等. 培养科研创新思维能力在免疫学教学过程中实践与探讨[J]. *承德医学院学报*, 2021, 38(6): 529 - 531

(收稿日期: 2022 - 08 - 06)

(修回日期: 2022 - 08 - 12)

study[J]. *Thromb Res*, 2018, 171: 149 - 154

- 20 Yue L, Deng X, Yang M, *et al.* Elevated B - type natriuretic peptide (BNP) and soluble thrombomodulin (sTM) indicates severity and poor prognosis of sepsis[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(5): 5561 - 5567
- 21 Vincent JL, Francois B, Zabolotskikh I, *et al.* Effect of a recombinant human soluble thrombomodulin on mortality in patients with sepsis - associated coagulopathy: the SCARLET randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2019, 321(20): 1993 - 2002
- 22 Kudo D, Goto T, Uchimido R, *et al.* Coagulation phenotypes in sepsis and effects of recombinant human thrombomodulin: an analysis of three multicentre observational studies[J]. *Crit Care*, 2021, 25(1): 114
- 23 Akatsuka M, Masuda Y, Tatsumi H, *et al.* Recombinant human soluble thrombomodulin is associated with attenuation of sepsis - induced renal impairment by inhibition of extracellular histone release[J]. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0228093
- 24 Suzuki K, Okada H, Takemura G, *et al.* Recombinant thrombomodulin protects against LPS - induced acute respiratory distress syndrome via preservation of pulmonary endothelial glycocalyx[J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(17): 4021 - 4033

(收稿日期: 2022 - 08 - 11)

(修回日期: 2022 - 09 - 02)